

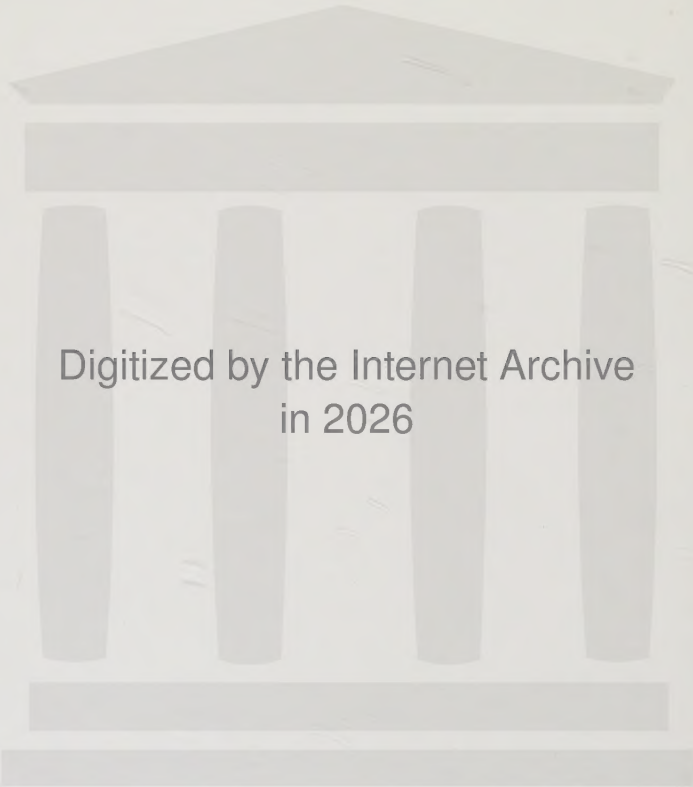
Untersuchungen mit Hilfe der
Elektronenspinresonanz-Spektroskopie
über die Entstehung und das Verhalten
strahleninduzierter freier Radikale
in Aminosäuren und Peptiden

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Gerd Henning Schnepel
aus Bremen

Gießen 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Untersuchungen mit Hilfe der
Elektronenspinresonanz-Spektroskopie
über die Entstehung und das Verhalten
strahleninduzierter freier Radikale
in Aminosäuren und Peptiden

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Gerd Henning Schnepel
aus Bremen

Gießen 1970



D 26

Dekan: Prof. Dr. phil. Gernot Eder

- I. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Alfred Schraub
- II. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Arthur Scharmann

Tag der mündlichen Prüfung: 10. 11. 1970

Inhaltsverzeichnis

=====

	Seite
I. <u>Einleitung</u>	
1. Problemstellung	5
2. Einführung	15
a) Das freie Radikal	15
b) Die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie	16
c) Die Mikrowellensättigung bei der Elektronenspinresonanz freier Radikale	20
II. <u>Material und Meßmethoden</u>	
1. Die Aminosäuren und Peptide	23
2. Die Bestrahlungsbedingungen	25
3. Die Dosismessungen	26
4. Die Arbeitsweise des ESR-Spektrometers	28
5. Die quantitative Auswertung der ESR-Spektren	30
6. Der Sekundärstandard für ESR-Intensitätsmessungen	32
III. <u>Ergebnisse</u>	
1. DL-Valin	37
a) Die ESR-Spektren	37
b) Das Mikrowellensättigungsverhalten	45
2. D-Valin	48
a) Die ESR-Spektren	48
b) Das Mikrowellensättigungsverhalten	50

	Seite
3. N-Acetyl-DL-valin	52
a) Die ESR-Spektren	52
b) Das Mikrowellensättigungsverhalten	58
4. Glycyl-DL-valin	61
a) Die ESR-Spektren	61
b) Reaktionskinetik bei Wärmebehandlung	72
c) Reaktionskinetik bei UV-Bestrahlung	78
5. DL-Valyl-glycin	80
a) Die ESR-Spektren	80
b) Die Veränderung der Konzentration strahleninduzierter Radikale durch Er- wärmung und durch UV-Bestrahlung	84
6. β -Amino-isocaproonsäure (3-Amino-4-methyl-valeriansäure)	87
7. Die Radikalausbeuten	90
 IV. <u>Diskussion</u>	
1. Die Radikalstellen	91
2. Zur Reaktionskinetik	96
3. Mögliche Bedeutung der Ergebnisse für die Aufklärung der Strukturen strahlenindu- zierter Radikale in Proteinen	99
 V. <u>Zusammenfassung</u>	100
 <u>Schriftenverzeichnis</u>	103
 <u>Abbildungsverzeichnis</u>	114

I. Einleitung

1. Problemstellung

Es ist noch wenig über die Vorgänge bekannt, die zwischen dem physikalischen Primärakt, der Absorption energiereicher Strahlung, und der nachher beobachteten biologischen Schädigung liegen. Da man lange geglaubt hat, der Absorptionsvorgang führe in kürzester Zeit zu einem stabilen Zustand des absorbierenden Moleküls, haben unter anderem strahlenchemische Arbeiten im Vordergrund des Interesses gestanden. Die Vorstellung einer unmittelbaren Schädigung biologisch wichtiger Elementarteile durch die absorbierte Strahlungsenergie hat zur Entwicklung der Treffertheorie geführt (11,35,68,76). Bei diesen Betrachtungen ist lange Zeit unberücksichtigt geblieben, daß der überwiegende Teil der ermittelten biologischen Schäden nicht als unmittelbare Folge eines "Treffers" anzusehen ist, sondern daß er das Endergebnis einer Kette physikochemischer, chemischer, biochemischer und biologischer Reaktionen darstellt (siehe Abb. 1).

Der sehr schnelle Vorgang der Absorption der Strahlenenergie führt zu ionisierten oder angeregten Molekülen. Schnell ablaufende inter- und intramolekulare Reaktionen von Radikalen (Molekülgruppen mit ungepaartem Elektronenspin) beenden die Phase strahlenchemischer Prozesse. Als Folge treten verhältnismäßig stabile molekulare Veränderungen auf ("manifestierte" molekulare Veränderungen, KOCH und MÖNIG (33), oder "fixierte"

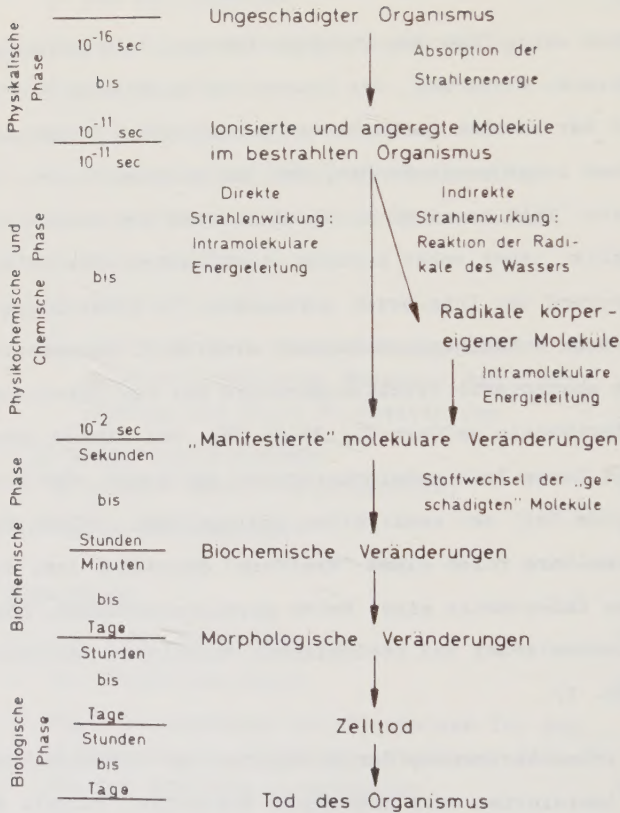


Abb. 1. Strahlenbiologische Reaktionskette (nach (42,74)).

Veränderungen, REDHARDT (52)). Bei der direkten Strahlenwirkung wird die Strahlenenergie von den biologisch wichtigen Strukturen selbst absorbiert. Ihre strahlenchemischen Veränderungen führen zu einer Schädigung des betrachteten Systems. Bei der indirekten Strahlenwirkung wird die Energie durch das umgebende Medium absorbiert, bei biologischen Systemen also hauptsächlich durch Wassermoleküle. Die dabei erzeugten Radikale und molekularen Zersetzungsprodukte reagieren mit den biologisch wichtigen Molekülen und rufen auf diese Weise die Strahlenwirkung hervor. Die strahlenchemisch veränderten Moleküle hemmen oder verändern Stoffwechselvorgänge. Das führt wiederum zu physiologischen und morphologischen Veränderungen.

Eine Möglichkeit, die sich unmittelbar an die Absorption von Energie anschließenden physikalisch-chemischen Vorgänge zu untersuchen, bietet sowohl die Pulsradiolyse (13,26) als auch die Elektronenspinresonanz-(ESR-)Spektroskopie (31). Ein Nachteil der Pulsradiolyse besteht darin, daß sie eine Durchlässigkeit des bestrahlten Systems im optischen Wellenlängenbereich erfordert. Dagegen lassen sich mit der ESR auch bei undurchsichtigen Substanzen freie Radikale nachweisen. Allerdings ist es mit ihr bis jetzt nicht möglich, sehr schnell ablaufende Vorgänge zu erfassen.

GORDY, ARD und SHIELDS (22) haben im Jahre 1955 nachgewiesen, daß in Aminosäuren, Proteinen und Nucleinsäuren durch Röntgenbestrahlung langlebige freie Radikale entstehen. ZIMMER, EHRENBURG und EHRENBURG (79) haben Versuche mit Embryonen durchgeführt, die aus Getreidekörnern herauspräpariert worden sind.

Auch hier sind nach der Bestrahlung freie Radikale mit der ESR-Spektroskopie gemessen worden. Nach diesen Untersuchungen hat sich die Frage gestellt, ob die langlebigen Radikale lediglich ein bedeutungsloses Nebenprodukt der primären Reaktionen darstellen oder ob sie, wie in dem Modell der Abb. 1 angenommen, Zwischenprodukte sind, die in den strahlenempfindlichen Strukturen die schädigenden Vorgänge auslösen.

Nach Untersuchungen von EHRENBURG und EHRENBURG (14) und SPARRMAN, EHRENBURG und EHRENBURG (73) an Samen von *Agrostis stolonifera* sowie von CONGER (9) und CONGER und RANDOLPH (10) an Getreidesamen besteht ein Zusammenhang zwischen den gebildeten Radikalen und der biologischen Schädigung, die auftritt, wenn man die Samen keimen läßt. Entsprechende Schlüsse haben sich aus den Versuchen an Sporen von POWERS (49), von TALLENTIRE und POWERS (75) sowie von WEBB (77) ziehen lassen. Ergebnisse von Untersuchungen über den Beitrag der langlebigen Radikale zur Inaktivierung trockener und feuchter Enzyme sind in Arbeiten von SOMMERMEYER und SCHNEPEL (69,70) sowie von SOMMERMEYER, SCHNEPEL und BUSS (71,72) mitgeteilt worden.

Da die Radikale sich als frühe Zwischenprodukte in der Kette strahleninduzierter chemischer Reaktionen erwiesen haben, hat man versucht, den Reaktionsablauf und die Radikalstruktur zu erforschen. Hierbei sind die in biologischen Systemen oft vertretenen Substanzen mit Peptidbindungen bevorzugt untersucht worden. Bei ihrer Radiolyse haben sich u.a. Ammoniak und Carbonylverbindungen nachweisen lassen (19,20). Wie man sich nach GARRISON et al. (19) die Folge der Reaktionen vorzustellen hat,

ist in Abb. 2 wiedergegeben.

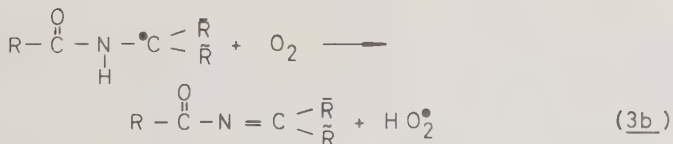
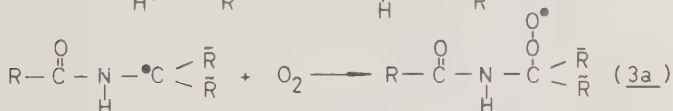
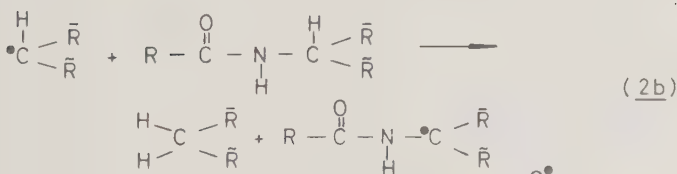
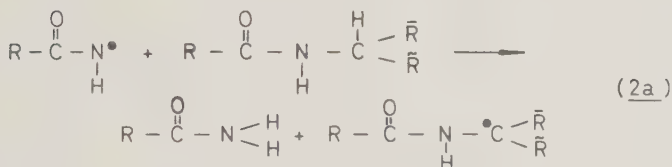
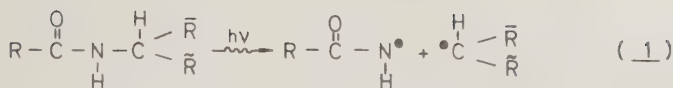


Abb. 2. (1. Teil) Strahleninduzierte chemische Reaktionen bei Peptiden (nach (19)).

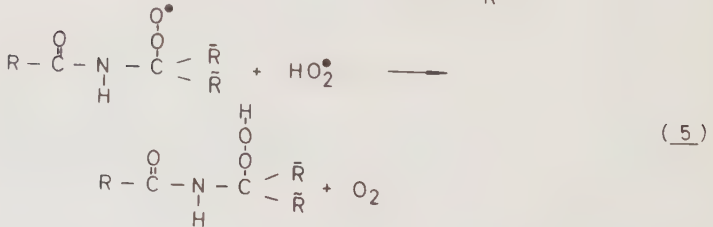
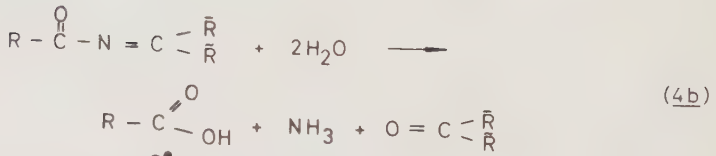
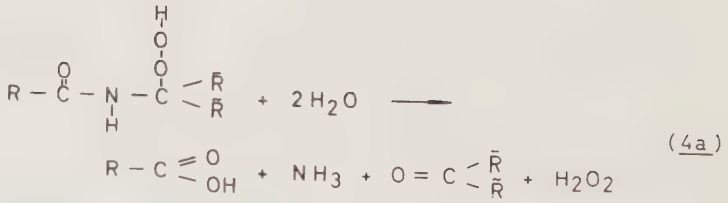
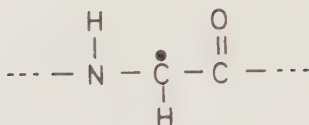


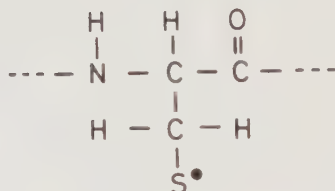
Abb. 2. (2. Teil) Strahleninduzierte chemische Reaktionen bei Peptiden (nach (19)).

Die Reaktionen beginnen mit einem strahleninduzierten Bindungsbruch und der dadurch hervorgerufenen Bildung zweier radikalischer Bruchstücke (Reaktion (1)). Diesem Schritt folgen die beiden Wasserstoff abspaltenden Reaktionen (2a) und (2b). Sie sind charakteristisch für die allgemeine Empfindlichkeit der C-H-Bindung am α -Kohlenstoff der Peptide gegenüber einem Angriff von Radikalen (18). Das Radikal $R-CO-NH-\dot{C}RR$ kann in bestrahlten Peptiden bei Zimmertemperatur mit der ESR-Spektroskopie nachgewiesen werden (12,23,27). In Anwesenheit von Sauerstoff kommt es zur Bildung von Peroxyradikalen nach (3a) oder nach (3b). Erneute Reaktionen der radikalischen Produkte der Gleichungen (3a) und (3b) mit C-H-Bindungen von Peptidmolekülen setzen die Reaktionskette fort. Werden die Substanzen in Wasser gelöst, so ergeben sich als Reaktionsprodukte Ammoniak und Carbonylverbindungen ((4a) und (4b)). Als Endschritt einer Reaktionskette könnte man sich Reaktion (5) denken.

Radikale der Struktur $R-CO-NH-\dot{C}RR$ lassen sich nicht nur nach einer Bestrahlung langkettiger Peptide mit der ESR nachweisen, sondern auch bei einigen niedermolekularen Substanzen mit Peptidbindungen wie Glycyl-glycin (4), N-Acetyl-glycin (40), N-Carbamyl-glycin (51) und N-Acetyl-DL-alanin (32). ESR-Messungen haben weiter gezeigt, daß bei Zimmertemperatur bestrahlte Proteine im wesentlichen nur zwei Arten von Radikalen aufweisen (22), nämlich außer Radikalen der eben angeführten Art, die als Glycyl-glycin-Radikale



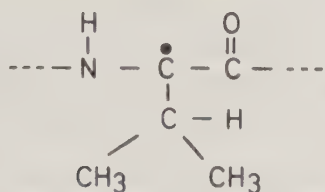
vorliegen, noch Schwefelradikale der Form



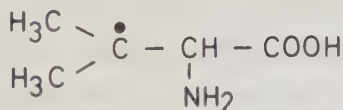
Die ESR-Spektren bestrahlter Aminosäuren weisen demgegenüber keine einheitliche Struktur auf, sondern fast jede Verbindung hat ein für sie charakteristisches Spektrum.

Die Peptide und Polyaminosäuren nehmen in ihrem Aufbau eine Mittelstellung zwischen den Aminosäuren und den Proteinen ein. Das ESR-Spektrum einiger bestrahlter Polymere wie Polyglycin, Polysarcosin, Polyalanin, Polyvalin, Polyleucin, Polyasparaginsäure, und Polyglutaminsäure ist von DREW und GORDY (12) gedeutet worden. Danach wird das bei Zimmertemperatur vorhandene freie Radikal in den genannten Poly- α -aminosäuren ebenso

wie bei den Peptiden durch Abtrennen eines H-Atoms aus der C-H-Gruppe der Peptidkette gebildet. Beim Polyvalin z.B. findet man das ungepaarte Elektron an folgender Stelle:



Demgegenüber läßt sich bei bestrahltem Valin bei Zimmertemperatur das Radikal



nachweisen (3,39,64,65).

Es stellt sich nun die Frage, an welcher Stelle im Molekül paramagnetische Zentren gefunden werden, wenn man Substanzen bestrahlt, die sich vom Valin darin unterscheiden, daß über die Peptidbindung eine weitere Gruppe an das Valinmolekül gebunden ist. In der vorliegenden Arbeit wird über Messungen an dem Aminosäurederivat N-Acetyl-DL-valin und an den beiden Di-peptiden Glycyl-DL-valin und DL-Valyl-glycin berichtet. Hierbei

soll auch geklärt werden, ob sich die beiden aus den gleichen Aminosäuren aufgebauten Dipeptide in ihrem Verhalten gegenüber energiereicher Strahlung voneinander unterscheiden.

Es soll vor allem auch geprüft werden, ob nach der Bestrahlung in den angeführten Substanzen mehrere Arten von Radikalen vorhanden sind. Das könnte Hinweise auf eine Folge von Reaktionsschritten nach der Absorption der Strahlungsenergie geben. Es ist schon seit langem bekannt, vor allem durch Untersuchungen an schwefelhaltigen Verbindungen, daß strahleninduzierte paramagnetische Zentren sowohl von einem Molekül zu einem zweiten als auch innerhalb des gleichen Moleküls wandern können (23, 28,45,46).

Es liegt nahe, als Ergänzung zu untersuchen, ob sich das ungepaarte Elektron an einer anderen Stelle im Molekül nachweisen läßt, wenn β -Aminosäuren ähnlicher Struktur wie die angeführten Substanzen bestrahlt werden, oder ob der Stellungswechsel der Aminogruppe ohne Einfluß bleibt. Als Beispiel ist hierfür von uns die β -Amino-isocaproinsäure (3-Amino-4-methyl-valeriansäure) gewählt worden.

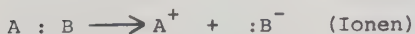
In der vorliegenden Arbeit wird auch über Messungen berichtet, die über den Einfluß von UV-Licht auf die strahleninduzierten Radikale in einigen der angeführten Substanzen Aufschluß geben sollen.

2. Einführung

a) Das freie Radikal

Als freies Radikal bezeichnet man ein Molekül oder ein Molekülbruchstück, in dem die normale chemische Bindung so verändert ist, daß ein ungepaartes Elektron vorhanden ist (31). Durch diese Definition sind die paramagnetischen Salze der Elemente der Übergangsgruppen ausgeschlossen, da sie während ihres normalen Bindungszustandes ungepaarte Elektronen enthalten. Bei einem freien Radikal befindet sich dieses Elektron in der Außenschale. Es bewirkt eine starke chemische Reaktionsfähigkeit und durch seinen nicht abgesättigten Elektronenspin ein magnetisches Moment. Freie Radikale können deshalb mit zwei verschiedenen Methoden untersucht werden, einmal chemisch, indem man ihre hohe Reaktionsfähigkeit ausnutzt, und zum anderen physikalisch durch ihre magnetischen Eigenschaften.

Die meisten chemischen Bindungsenergien liegen in der Größenordnung von 5 bis 10 eV. Deshalb können Bindungsbrüche nicht nur durch Röntgen- oder γ -Bestrahlung, sondern auch durch UV-Licht entstehen. Die in homöopolaren Bindungen paarweise vorhandenen Elektronen verteilen sich bei einem Bindungsbruch entweder so auf die Bruchstücke, daß freie Radikale entstehen, oder so, daß sich Ionen bilden:



Wie schon im Abschnitt "Problemstellung" angeführt worden ist,

werden in der vorliegenden Arbeit die freien Radikale auf Grund ihrer magnetischen Eigenschaften mit Hilfe der Elektronenspinresonanz-Spektroskopie untersucht.

b) Die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie

Unter der Elektronenspinresonanz versteht man die selektive Absorption der elektromagnetischen Strahlung in paramagnetischen Zentren im Magnetfeld durch Übergänge des Elektronenspins (61). Die erforderliche Frequenz der Strahlung hängt vom äußeren Magnetfeld ab. Man kann die ESR als ein Teilgebiet der Zeeman-Spektroskopie ansehen. Im Unterschied zur Optik werden die Elektronenspinübergänge hier direkt gemessen und nicht als Differenz zweier sehr großer Übergänge wie im sichtbaren Gebiet. Die Voraussetzung zur Messung der ESR ist dadurch gegeben, daß alle paramagnetischen Stoffe bzw. freien Elektronen ihre Spinentartung im angelegten Magnetfeld aufheben. Die Elektronenspinzustände haben dann verschiedene Energien, zwischen denen Übergänge stattfinden können. Der Energieunterschied zwischen den Niveaus im äußeren Magnetfeld H ist

$$\Delta E = h\nu = \Delta M_S g \beta H$$

ΔM_S ist die Differenz der magnetischen Quantenzahlen des Elektrons. Die erlaubten Übergänge finden bei höheren Magnetfeldern nur zwischen den benachbarten Spinniveaus statt. Bei freien Elektronen muß $\Delta M_S = \pm 1$ gesetzt werden. β ist das Bohrsche Magneton und g der spektroskopische Aufspaltungsfaktor. Er ist von der Struktur der betreffenden Materie abhängig und ein Maß

für die Größe der Aufspaltung der Energieniveaus im Magnetfeld. Für das freie Elektron ist

$$g = 2,0023.$$

Die Größe der Aufspaltung der Energieniveaus im üblichen Magnetfeld von 3300 Oersted entspricht für $\Delta M_S = \pm 1$ und $g = 2$ einer Frequenz von $9 \cdot 10^9$ Hz. Sie ist also erheblich geringer als bei optischen Übergängen.

Durch die Wechselwirkung des Elektronenspins mit dem Kernspin des gleichen oder eines benachbarten Atoms entsteht die Hyperfeinstruktur des aufgenommenen ESR-Spektrums. Sie ist nur möglich, wenn am Kernort eine ausreichende Elektronendichte vorhanden ist und der Kernspin von Null verschieden ist. Wenn das äußere Magnetfeld erheblich größer als das vom Kernspin erzeugte ist (PASCHEN-BACK-Fall), wie es bei der Messung der ESR im Mikrowellengebiet der Fall ist, so orientieren sich Kernspin und Elektronenspin unabhängig voneinander in Richtung des äußeren Magnetfeldes. Es wird kein Gesamtmoment gebildet, sondern die Spins werden gesondert gequantelt. Damit wird jeder Elektronenspinübergang durch die Wechselwirkung mit dem Kernspin in Hyperfeinstrukturlinien aufgespalten. Ihre Analyse kann Aufschlüsse über die Anordnung der Atomkerne und damit über die Molekülstruktur ergeben. In bestrahlten organischen Substanzen wird die Hyperfeinstruktur am häufigsten durch Protonen verursacht (Kernspin $1/2$).

Da während des Überganges des Elektronenspins von einem Niveau zum anderen der Kernspin unverändert bleibt, gilt als Auswahlregel für die Kernspinguantenzahl $\Delta M_I = 0$. Für einen

Kern mit dem Spin I gibt es $(2I + 1)$ mögliche Einstellungen im Magnetfeld. Eine von einem Elektronenspinübergang herrührende Linie wird in die gleiche Anzahl Hyperfeinstrukturlinien gleichen Abstandes aufgespalten. Findet eine gleich starke Wechselwirkung des ungepaarten Elektrons mit n gleichen Kernen mit dem Spin I statt, so fallen manche Linien zusammen. Das sich ergebende Absorptionsspektrum besteht dann nur aus $(2nI + 1)$ verschiedenen Linien. Es zeigt in seiner Mitte die größte Intensität und nach den Seiten einen symmetrischen Abfall.

Die Aufspaltung, die durch zwei bzw. drei Protonen mit dem Kernspin $I = 1/2$ hervorgerufen wird, ist in Abb. 3 angegeben. Durch jede Wechselwirkung mit einem Proton wird jeder Term in zwei weitere mit den Komponenten $M_I = + 1/2$ und $M_I = - 1/2$ aufgespalten. Unter den angeführten Voraussetzungen ergibt sich für das Intensitätsverhältnis der Hyperfeinstrukturlinien bei einer Wechselwirkung des Elektrons mit n gleichen Kernen die binomische Reihe

$$\binom{n}{0} : \binom{n}{1} : \binom{n}{2} : \dots : \binom{n}{n-1} : \binom{n}{n} .$$

Moleküle mit mehreren äquivalenten Protonen kommen recht oft vor. In den von uns untersuchten Substanzen sind bei freier Drehbarkeit der Methylgruppen bei Zimmertemperatur die Methylgruppenprotonen als äquivalent anzusehen.

Die Spektren polykristalliner Substanzen zeigen oft keine aufgelöste Hyperfeinstruktur. Das liegt daran, daß einmal die

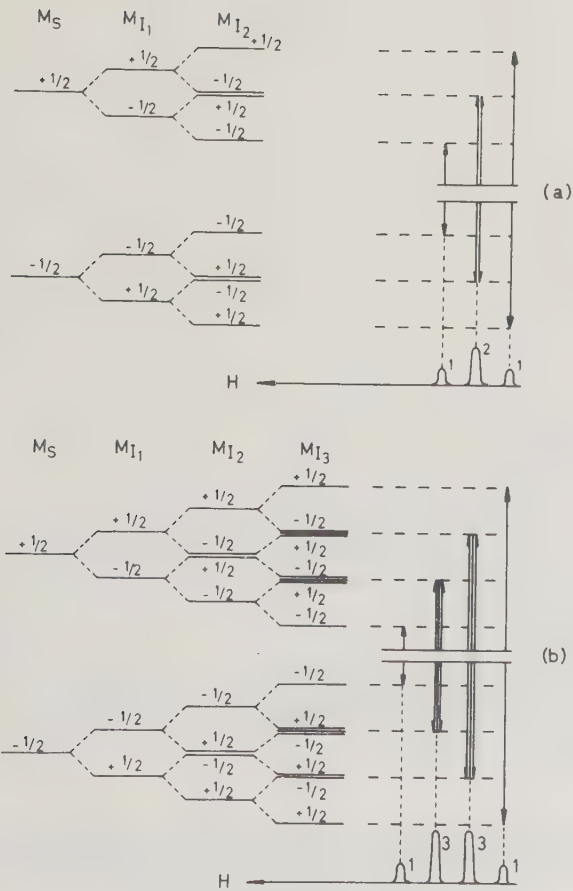


Abb. 3. Die von zwei (a) und von drei (b) Protonen mit gleichen Kopplungskonstanten hervorgerufene Hyperfeinstrukturaufspaltung der Terme.

Hyperfeinstruktur-Wechselwirkung einen anisotropen Anteil enthalten und daß zum anderen der spektroskopische Aufspaltungsfaktor g anisotrop sein kann. Die anisotrope oder dipolare Hyperfeinstruktur beruht auf der Wechselwirkung zwischen dem Dipolmoment des Elektrons und dem des Kerns. Die Größe dieser Wechselwirkung hängt vom Winkel zwischen der Richtung des äußeren Feldes und dem Radiusvektor (Verbindungsline zwischen Elektron und Kern) ab. Eine Unterscheidung zwischen der isotropen und der anisotropen Hyperfeinstruktur-Wechselwirkung ist möglich, wenn man einen Einkristall der betreffenden Substanz in verschiedenen Magnetfeldorientierungen untersucht. Die Anisotropie des g -Faktors wird durch die Spin-Bahn-Kopplung des Elektrons hervorgerufen. Oft läßt sie sich auf Grund der stark asymmetrischen Linienform erkennen. Eine Untersuchung ist bei pulverförmigen Substanzen möglich, wenn man zu größeren Magnetfeldstärken und damit zu höheren Mikrowellenfrequenzen übergeht. In vielen Systemen sind allerdings die isotropen Terme viel größer als die anisotropen, so daß die letzteren nur eine Verbreiterung der Hyperfeinstrukturlinien bewirken.

c) Die Mikrowellensättigung bei der Elektronenspinresonanz freier Radikale

Eine Beobachtung der ESR wäre nicht möglich, wenn die durch die Strahlung in höhere Energieniveaus gebrachten Elektronenspins keine Möglichkeit hätten, strahlungslos in den Grundzustand zurückzukehren. Durch die Wechselwirkung des

Spins mit dem Gitter kann die Spinenergie abgegeben und in Wärme umgewandelt werden. Bei freien Radikalen besteht im allgemeinen eine schwache Spin-Bahn-Kopplung. Die weitaus häufigste Art der Spin-Gitter-Wechselwirkung erfolgt aber über die Spin-Bahn-Kopplung, da sich die thermischen Schwingungen von Molekül oder Gitter in erster Linie nur mit der Bahnbewegung des Elektrons koppeln. Es ergeben sich deshalb bei freien Radikalen recht große Werte für die Spin-Gitter-Relaxationszeit, im Gegensatz zu den normalen paramagnetischen Atomen mit verhältnismäßig starker Spin-Bahn-Wechselwirkung. Die Herabsetzung der Bahnbewegung infolge der Unsymmetrie des Moleküls vergrößert ebenfalls die Relaxationszeit bei freien Radikalen. Da also bei den meisten Untersuchungen an freien Radikalen die Spin-Gitter-Wechselwirkung über die Bahnkopplung sehr schwach ist, erzeugt sie keine merkliche Verbreiterung der Elektronenspinresonanz-Absorptionslinien durch eine Verkürzung der Lebensdauer des angeregten Zustandes (31,37,41). Häufig ist sogar das Gegenteil der Fall, daß nämlich die Wechselwirkung nicht groß genug ist, um die Spins schnell genug vom angeregten Zustand in den Grundzustand zurückkehren zu lassen. Auf diese Weise ergibt sich ein Sättigungseffekt (31,61). Experimentell zeigt sich die zu große Leistung des Hochfrequenzfeldes in einer Abnahme der relativen Größe der Mikrowellenabsorption und in einer Zunahme der Breite der Absorptionslinien.

Messungen an strahleninduzierten freien Radikalen haben ergeben, daß sich schon bei verhältnismäßig geringer Mikrowellen-

leistung eine Sättigung ergeben kann (7,66,80). Es ist die Beziehung zwischen der Amplitude (7,66) bzw. zwischen dem statischen Moment (80) des ESR-Spektrums und der Mikrowellenfeldstärke am Ort der Probe untersucht worden. Bei den Messungen an verschiedenen, bestrahlten Aminosäuren ist ein unterschiedliches Sättigungsverhalten festgestellt worden, für eine bestimmte Aminosäure soll die Sättigung jedoch unabhängig von der Bestrahlungsdosis sein (80). Diese Ergebnisse haben wir beim DL-Valin nicht bestätigen können (56, 57). In der vorliegenden Arbeit wird über weitere Messungen hierzu berichtet.

II. Material und Meßmethoden

=====

1. Die Aminosäuren und Peptide

Die Substanzen DL-Valin, N-Acetyl-DL-valin, Glycyl-DL-valin und DL-Valyl-glycin sind in polykristalliner Form von der Firma Schuchardt, München, bezogen worden. Die Aminosäure D-Valin ist in gleicher Ausführung von der Firma EGA-Chemie, Keppler & Reif, Steinheim, geliefert worden. Die β -Amino-isocaprönsäure ist für unsere Untersuchungen von der Firma Schuchardt angefertigt worden.

Die chemischen Formeln der Verbindungen sind in Abb. 4 wiedergegeben. Die Aminosäuren und Peptide sind in dem höchsten vorhandenen Reinheitsgrad von den Firmen bezogen und ohne weitere Aufbereitung für unsere Messungen verwandt worden.

2. Die Bestrahlungsbedingungen

Die meisten Bestrahlungen sind mit dem Röntgenapparat "Dermopan" der Siemens-Reiniger-Werke, Erlangen, durchgeführt worden. Er liefert bei 50 kV Spannung und 25 mA Röhrenstrom ohne Filterung eine verhältnismäßig hohe Dosisleistung ($140 \text{ krad} \cdot \text{min}^{-1}$ am Probenteller). Der Anteil weicher Strahlung ist allerdings groß, so daß eine Halbwertsschicht (HWS) von nur 0,05 mm Aluminium gemessen worden ist, was einer effektiven Wellenlänge von $1,55 \text{ \AA}$ entspricht. Der Homogenitätsgrad der Strahlung (Verhältnis der 2. zur 1. HWS) ist von uns zu 1,4 bestimmt worden. Die Hostaphanfolie im Fenster des Bestrahlungsgefäßes ist so dünn, daß sich bei Röntgenbestrahlung kein Intensitätsverlust hat nachweisen lassen. Die mittlere Dosisleistung in der Substanz von $10^{-2} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ Schichtdicke beträgt bei einer Röntgenbestrahlung von $1,55 \text{ \AA}$ noch 96% von der an der Oberfläche. Dieser Wert ist bei der Berechnung berücksichtigt worden.

Gelegentlich ist auch der von der Firma C.H.F.Müller, Hamburg, hergestellte Röntgenapparat MG 150 von uns benutzt worden. Bei 150 kV Spannung und einem Röhrenstrom von 11 mA hat die Dosisleistung am Ort der Proben $14 \text{ krad} \cdot \text{min}^{-1}$ betragen.

Für die Bestrahlungen mit ultraviolettem Licht ist ein Quecksilberniederdruckbrenner NN 15/44 der Quarzlampengesellschaft Hanau benutzt worden. Er sendet hauptsächlich die Quecksilberresonanzlinie bei 254 nm aus. Während der UV-Bestrahlung ist das Quarzröhrchen (Suprasil der Heraeus-Schott-Quarzschmelze,

Hanau) mit der Substanz gedreht worden. Die Bestrahlungsstärke am Ort der Röhrchen hat $2,9 \cdot 10^4 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ betragen. Gemessen worden ist sie mit einer kalibrierten Thermosäule der Firma Kipp & Zonen, Delft, Holland.

3. Die Dosismessungen

Die Röntgenstrahlendosen sind mit dem von der Firma Philips hergestellten Gerät bestimmt worden. Durch Auswechseln der Ionisationskammern für verschiedene Strahlenqualitäten ist ein Messen mit einem Fehler von $\pm 5\%$ möglich.

Bei Bestrahlung mit härteren Röntgenstrahlen ist die Dosis zusätzlich mit dem Eisensulfat-Dosimeter nach FRICKE (16,17) ermittelt worden. Ihm liegt die Oxydation von Fe^{++} zu Fe^{+++} in wässriger Eisensulfatlösung durch die Bestrahlung zugrunde. Bei einer stark verdünnten, mit Sauerstoff gesättigten Lösung ist der chemische Umsatz solange der eingestrahlt Dosis proportional, bis der Sauerstoff verbraucht ist. Die Reaktion ist abhängig vom P_H -Wert.

Als Dosimeterlösung wird 1mM FeSO_4 und 1mM NaCl in 0,8 N H_2SO_4 angesetzt (63). Die Menge der gebildeten Fe^{+++} -Ionen wird photometrisch bei $3040 \text{ \AA}$ bestimmt. Für die absorbierte Dosis in rad gilt dann die Beziehung:

$$D = \frac{4,328 \cdot 10^5}{1 + 0,007 \cdot (t - 25)} \cdot \frac{E - E'}{L \cdot G}$$

t = Temperatur in °C, bei der die Extinktion gemessen wird

E = Extinktion der bestrahlten Lösung

E' = Extinktion der unbestrahlten Lösung

L = Schichtdicke der Küvetten in cm

G = Anzahl der von 100 eV gebildeten Fe^{+++} -Ionen.

Der Wert G ist ein wenig von der Härte der Strahlung abhängig, er kann aber aus Tabellen entnommen werden (siehe z.B. (63)). Zur Umrechnung der in Röntgen-Einheiten gemessenen Röntgenstrahlendosen in rad-Einheiten (Energiedosen) sind die Werte von KROKOWSKI (34) benutzt worden. Die Absorption einer Röntgenstrahlung von $1,55 \text{ \AA}$ Wellenlänge erfolgt nur durch den Photoeffekt. Die für ihn charakteristische Materialgröße ist die dritte Potenz der Ordnungszahl des Elementes, bzw. bei einer Verbindung die gemittelte dritte Potenz, d.h. bei gleicher Bestrahlungsdosis verhalten sich die Energiedosen wie Z_{eff}^3 .

$$Z_{\text{eff}}^3 = \frac{\sum n_i Z_i^4}{n_i Z_i}$$

Z = Ordnungszahl

n = Anzahl der betreffenden Atome.

Für die Aminosäuren und Peptide lassen sich aus ihrer Zusammensetzung die gewünschten Werte errechnen.

4. Die Arbeitsweise des ESR-Spektrometers

Eine Anordnung zum Nachweis paramagnetischer Resonanzen kann man in drei Einheiten einteilen, in eine Einheit zur Erzeugung eines homogenen Magnetfeldes, eine Mikrowellenapparatur, in der die paramagnetischen Atome dem hochfrequenten Störfeld ausgesetzt werden, und eine Vorrichtung zum Nachweis der Resonanzen selbst (36,54).

Da die als Mikrowellengeneratoren benutzten Klystrons keine große Veränderung der Frequenz gestatten und da außerdem die Eigenschaften der Mikrowellenbauteile frequenzabhängig sind, arbeiten die meisten Spektrometer bei fester Frequenz und veränderlicher magnetischer Feldstärke.

Die Untersuchungen sind mit dem Spektrometer 20 X der Firma AEG durchgeführt worden. Es arbeitet im X-Band-Bereich. Die Abb. 5 zeigt das Prinzip. Die Meßzelle besteht aus einem Hohlraumresonator H_{102} , der in Reflexion arbeitet und nur einseitig an einen Hohlleiter gekoppelt ist. Zur Erhöhung der Empfindlichkeit wird das Magnetfeld mit 125 kHz moduliert und damit auch die absorbierte Leistung. Man erhält deshalb nach phasenempfindlicher Gleichrichtung nicht das ESR-Absorptionsspektrum direkt, sondern seine erste Ableitung.

Mit einer Protonenresonanzsonde ist die Magnetfeldstärke mit einer Genauigkeit von $\pm 0,01\%$ gemessen worden. Nach zusätzlicher Bestimmung der Mikrowellenfrequenz mit einem Fehler von $\pm 0,01\%$ sind die g-Werte der ESR-Spektren errechnet worden. Die Genauigkeit beträgt dann $\Delta g/g = \pm 0,02\%$.

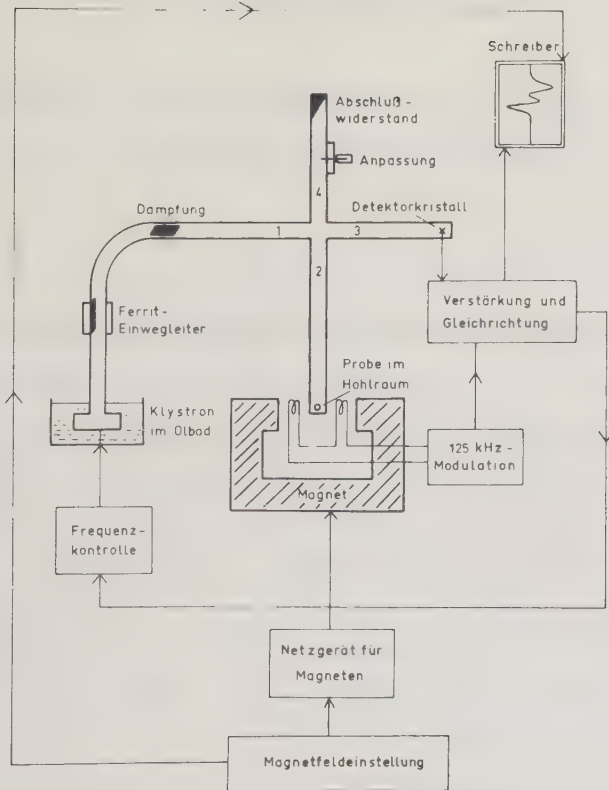


Abb. 5. Prinzip eines ESR-Spektrometers.

Im allgemeinen sind 40 mg der zu messenden Substanz in Quarzröhrchen gefüllt und dann in die Mitte des Resonators gebracht worden. Hier ist die magnetische Mikrowellenfeldstärke ein Maximum und damit die Empfindlichkeit der Messung am höchsten.

Die Bestrahlungen und die ESR-Messungen sind bei Zimmertemperatur in Luft von Atmosphärendruck durchgeführt worden.

5. Die quantitative Auswertung der ESR-Spektren

Nach INGRAM (31) ist die Fläche unter dem ESR-Spektrum ein Maß für die Anzahl der ungepaarten Elektronen. Da aber infolge der Magnetfeldmodulation nicht das Absorptionssignal $A(H)$ selbst, sondern die erste Ableitung $A'(H)$ aufgezeichnet wird, muß zweimal integriert werden, um die gewünschte Fläche zu erhalten. Erschwerend kommt die bei den meisten Spektren auftretende Drift der Grundlinie hinzu. Die Kurve beginnt bei $A'(H) = 0$ und endet bei Werten $A'(H) \neq 0$, so daß Korrekturen angebracht werden müssen.

Wir haben das zweimalige Integrieren durch die Bestimmung des statischen Momentes umgangen (8). Die Anzahl der ungepaarten Elektronenspins beträgt

$$\int_{-\infty}^{+\infty} A(H) dH \quad .$$

Berücksichtigt man, daß bei der Aufnahme des Spektrums das Absorptionssignal $A(H)$ schon bei den endlichen Werten H_1 und H_2 gleich 0 wird, so ergibt sich hierfür das Integral

$$\int_{H_1}^{H_2} A(H) dH \quad .$$

Durch partielle Integration erhält man

$$\int_{H_1}^{H_2} A(H) \cdot dH = [A(H) \cdot H]_{H_1}^{H_2} - \int_{H_1}^{H_2} A'(H) \cdot H dH$$

Der erste Ausdruck wird nach den oben angegebenen Grenzbedingungen gleich Null. Um die Anzahl der Radikale zu erhalten, muß das statische Moment des Spektrums bestimmt werden. Wir haben es planimetrisch ermittelt (47).

Verändert sich die Form des ESR-Spektrums innerhalb einer Meßreihe nicht, so kann man die Größen auch einfach durch Ausmessen der Spektrenamplituden vergleichen.

6. Der Sekundärstandard für ESR-Intensitätsmessungen

Die erhaltenen ESR-Spektren sind zuerst mit der Größe eines Spektrums verglichen worden, das man nach der Bestrahlung einer bestimmten Menge Glycin mit fester Dosis erhält. Das Glycin ist im Wechsel mit der Meßprobe in den Resonator gebracht worden. Das hat den Nachteil, daß sich die Empfindlichkeit des Spektrometers bei verschiedenen Dielektrizitätskonstanten der Substanzen ändert, abgesehen von mehreren anderen Fehlerquellen. Wir sind deshalb bald dazu übergegangen, gleichzeitig mit der Meßprobe einen Standard im Resonator unterzubringen.

Nach SINGER (67) eignet sich ein kleiner Einkristall aus synthetischem Rubin (Al_2O_3 mit Cr^{3+}) als Intensitätsstandard für quantitative Messungen der Elektronenspinresonanz im X-Band-Bereich. GEUSIC (21) gibt für die Nullfeldaufspaltung des Cr^{3+} -Ions im Rubin $0,386 \pm 0,002 \text{ cm}^{-1}$ an. Die Mikrowellenfrequenz im X-Band liegt in der Größe dieser Aufspaltung. Es besteht demnach eine starke Abhängigkeit der Lage des ESR-Spektrums des Rubins von seiner Orientierung gegenüber dem äußeren Magnetfeld. Wird der Kristall in der richtigen Winkelstellung in den Mikrowellenresonator gebracht, so besitzt er keine Resonanzstelle bei $g = 2,0$, dem Absorptionsbereich der meisten Meßproben. Man kann den Standard dann gleichzeitig mit der Meßprobe im Resonator unterbringen, damit bei einer Änderung der Güte beide in gleicher Weise betroffen werden. Ein weiterer Vorteil des Rubinkristalls liegt in seiner chemischen Stabilität.

Für unsere ESR-Intensitätsmessungen bringen wir den Rubin-kristall zwar in einer festen Orientierung gegenüber dem statischen Magnetfeld, nicht aber gegenüber dem Mikrowellenfeld im Resonator an, da wir das Spektrum des Standards in seiner Größe jeweils dem Spektrum der Meßprobe angleichen wollen, um eine genauere Bestimmung des statischen Momentes der beiden Spektren zu ermöglichen. Damit diese Forderung für mehrere gleichzeitig laufende Meßreihen erfüllt ist, muß der Rubin mit genügender Genauigkeit jeweils wieder an dieselbe Stelle innerhalb des Resonators gebracht werden. Es ist dann nur eine einmalige Eichung des Rubins erforderlich. Außerdem ist die Anordnung vorteilhaft, wenn Proben mit schnell sich ändernder Spektrengröße gemessen werden.

Für den Rechteckhohlraumresonator H_{102} benutzen wir eine Vorrichtung, die im wesentlichen aus einem Feintrieb aus Messing besteht (Abb. 6). Durch Verschieben parallel der Achse des Resonators bringt man den Rubin in Bereiche größerer und kleinerer Mikrowellenfeldstärke. Damit läßt sich die Intensität der Absorption über einen großen Bereich verändern. Der obere Teil des Feintriebes trägt einen Ring mit einem exzentrisch angebrachten Stab aus Quarzglas, an den der Rubinkristall geklebt ist. Nach der durch Drehen gefundenen günstigsten Kristallorientierung ist der Ring fest an den Stempel des Feintriebes geschraubt worden. Nach MÖNIG und KOCH (45) ist es vorteilhaft, den g -Wert des Absorptionsmaximums auf $g = 2,15$ zu legen. Die Resonanzstelle liegt dann weit genug entfernt von der, die Substanzen mit strahleninduzierten Schwefel-

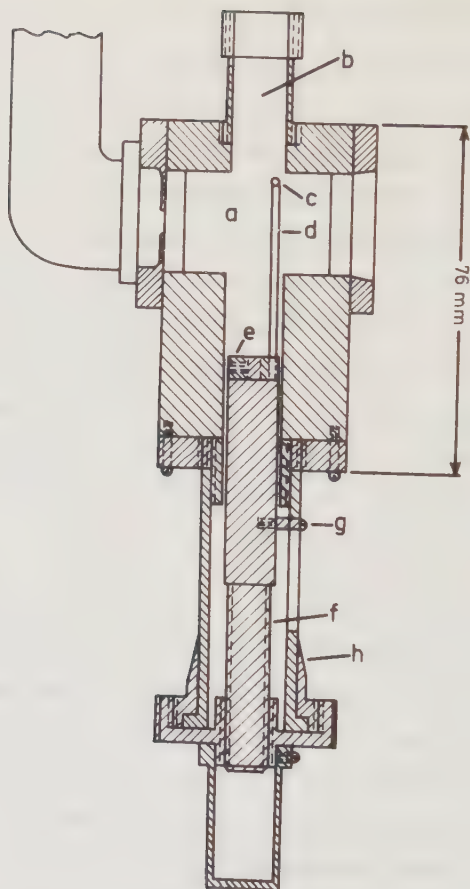


Abb. 6. Mikrowellenresonator mit eingebautem Rubinkristall.
 a = Resonatorhohlraum, b = Einlaß für Probe, c = Rubinkristall, d = Quarzstab, e = Justierung für die Rubinorientierung, f = Feintriebsgewinde, g = Anzeige für die Rubinstellung, h = Feinanzzeige für die Rubinstellung. (In dieser Abb. ist die für den Resonator der Firma Varian Ass., Palo Alto, Calif., USA, von uns gebaute Einrichtung angegeben (55). Der Sekundärstandard für den Resonator der Firma AEG unterscheidet sich hiervon nur in einigen Maßen.)

radikalen aufweisen.

Die Abb. 7 zeigt die Abhängigkeit der Größe des Absorptionsspektrums von der Lage des Rubins im Resonator bezogen auf maximale Intensität in der Mitte. Als Vergleich dient bei dieser Meßreihe eine Probe Pech. Nach längerem Gebrauch und anschließendem hundertmaligen Drehen des Feintriebess über den ganzen Bereich sind die Werte mit derselben Probe Pech ein zweites Mal gemessen worden. Kein Meßwert zeigt eine größere Abweichung als $\pm 3\%$ gegenüber dem ersten Wert. Die Genauigkeit erscheint uns ausreichend, um mit dieser Methode größere Meßreihen durchführen zu können.

Der Sekundärstandard ist durch Vergleichen mit Lösungen von DPPH in CCl_4 kalibriert worden. Deren genaue Konzentration hat sich aus optischen Extinktionsmessungen im Wellenlängenbereich um 518 nm ergeben (25,43,80).

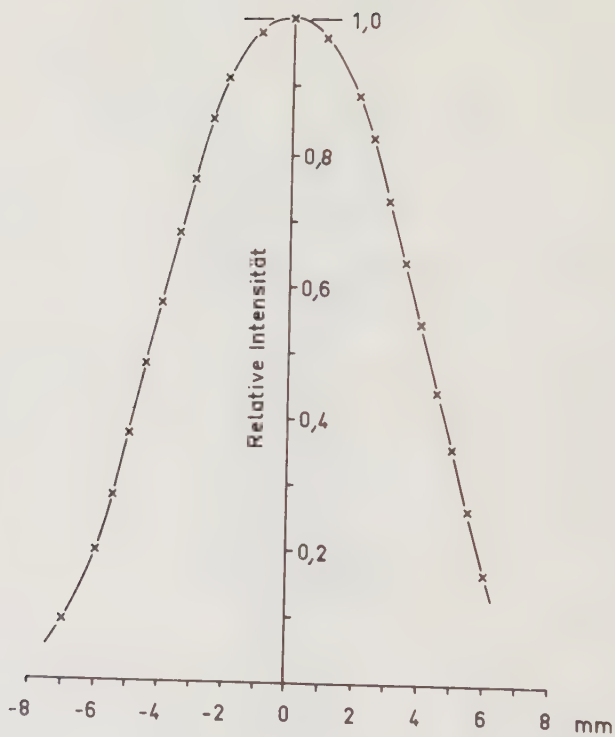


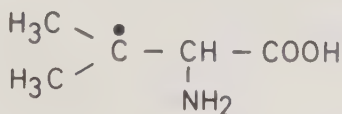
Abb. 7. Die relative Intensität des ESR-Spektrums des Rubins in Abhängigkeit von seinem Abstand von der Resonatormitte.

III. Ergebnisse =====

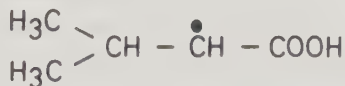
1. DL-Valin

a) Die ESR-Spektren

Wie schon in der Einleitung angeführt, ist von SHIELDS et al. (65) aus den ESR-Spektren bestrahlter Einkristalle des DL-Valins geschlossen worden, daß bei Zimmertemperatur das freie Radikal



gebildet wird. Diese Untersuchungen stimmen mit früheren Befunden anderer Autoren überein (39,64). Als Ergänzung dazu haben BOX et al. (3) zeigen können, daß nach einer der Röntgenbestrahlung bei 77°K folgenden Erwärmung der Substanz auf 225°K ein ESR-Spektrum aufgenommen wird, das dem Radikal



zugeordnet werden muß. Eine weitere Erwärmung auf Zimmertemperatur führt dann zu dem Radikal $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$. Im ESR-Spektrum des bei Zimmertemperatur bestrahlten polykristallinen DL-Valins ist die von der Wechselwirkung des

ungepaarten Elektrons mit dem Kernspin des Stickstoffs ($I = 1$) hervorgerufene Hyperfeinstruktur nicht gut aufgelöst (Abb. 8a). Man würde annehmen, daß hierfür Anisotropieeffekte verantwortlich sind, wenn sich nicht überraschenderweise eine gut aufgelöste Hyperfeinstruktur nach Erwärmung der Substanz auf 353°K zeigen würde (Abb. 8b).

Im mittleren Teil des Spektrums ist die Tripletttaufspaltung jeder Linie des Methylgruppen-Septetts deutlich zu erkennen. Für den isotropen Anteil der Hyperfeinstrukturaufspaltung entnehmen wir dem Spektrum

$$\begin{aligned} a_{\text{H}}^{\text{CH}_3} &= 23,0 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\ a_{\text{N}} &= 7,9 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe.} \\ a_{\text{H}}^{\text{CH}} &\approx 0 \end{aligned}$$

Diese Werte stimmen recht gut mit denen anderer Autoren überein (39,65).

Eine der Röntgenbestrahlung folgende UV-Bestrahlung der Wellenlänge 254 nm führt zu ähnlichen Ergebnissen wie die Wärmebehandlung. Auch sie löst die Hyperfeinstruktur im mittleren Teil des Spektrums deutlich auf (Abb. 9). Allerdings hat es den Anschein, als ob in diesem Fall ein zweites Spektrum dem eben behandelten überlagert ist. Während die Radikalkonzentration unter den angegebenen Bedingungen bei der Wärmebehandlung nur auf 85% absinkt, fällt sie durch die UV-Belichtung auf 32% ab.

Eine zehnstündige Bestrahlung mit UV-Licht allein ergibt nur

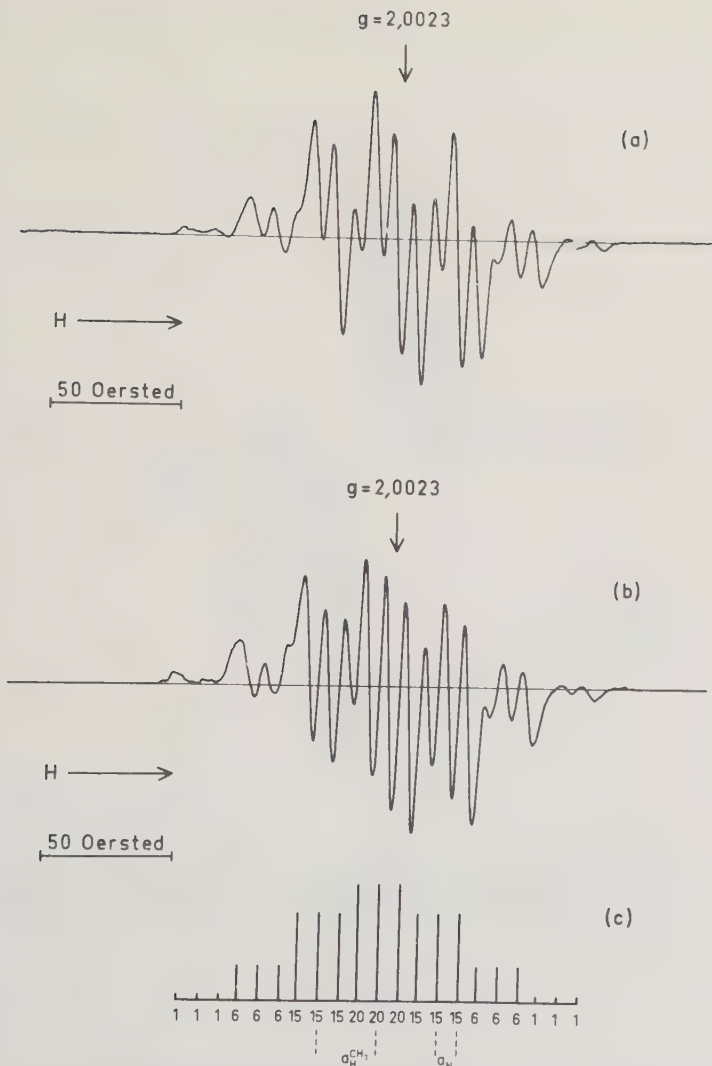


Abb. 8. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach Röntgenbestrahlung mit 1 Mrad (a) vor und (b) nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K. (c) Berechnetes Spektrum unter Benutzung der gemessenen Hyperfeinstrukturaufspaltung (nach 60).

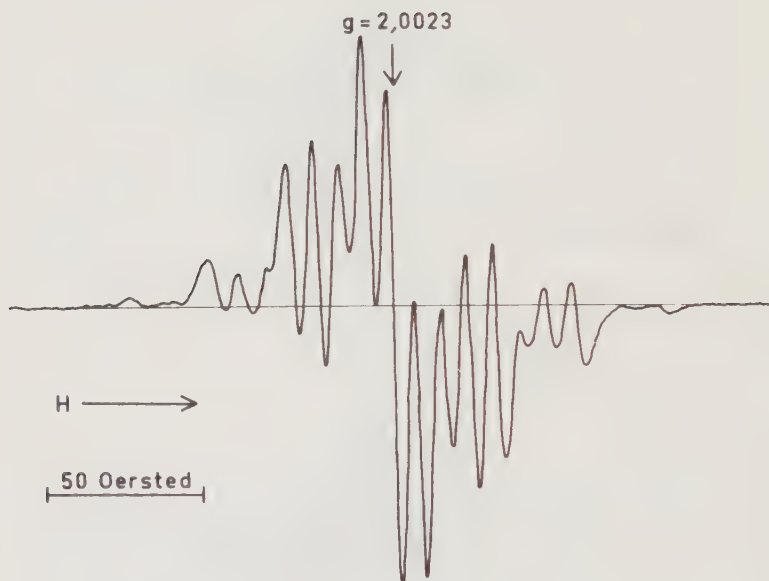


Abb. 9. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach einer der Röntgenbestrahlung von 1 Mrad folgenden UV-Belichtung von 10 h.

die äußerst geringe Anzahl paramagnetischer Zentren von weniger als 10^{16} Spins $\cdot g^{-1}$. Wird die gleiche UV-Bestrahlung vor der Röntgenbestrahlung vorgenommen, so zeigen sich im ESR-Spektrum keine Unterschiede gegenüber einer alleinigen Röntgenbestrahlung. Das gleiche gilt für eine Wärmebehandlung vor der Röntgenbestrahlung. Es ist deshalb recht unwahrscheinlich, daß Veränderungen der Kristallstruktur für den beschriebenen Vorgang verantwortlich sind.

Eine sich an Röntgen- und UV-Bestrahlung anschließende zusätzliche Wärmebehandlung verändert die Struktur des ESR-Spektrums nicht mehr wesentlich (Abb. 10).

Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß die von BOX et al. (3) gefundene Radikalwanderung noch nicht abgeschlossen ist. Man erhält deshalb eine Überlagerung der Spektren mindestens zweier Radikalarten. Eine vollständige Umwandlung des instabilen paramagnetischen Zentrums in eine stabile Form innerhalb eines überschaubaren Zeitraumes geschieht erst dann, wenn die Temperatur weiter erhöht wird.

Für die Ergebnisse nach UV-Bestrahlung ergeben sich folgende Erklärungsmöglichkeiten: Man kann annehmen, daß die eine Radikalart schneller gelöscht wird als die andere, es ist aber auch denkbar, daß durch das UV-Licht zusätzlich eine Wanderung von Radikalstellen angeregt wird. Eine Löschung strahleninduzierter paramagnetischer Zentren durch UV-Licht ist bei den Aminosäuren Alanin (5) und Methionin (44) bereits bekannt.

Wird DL-Valin sehr lange dem UV-Licht ausgesetzt, so läßt

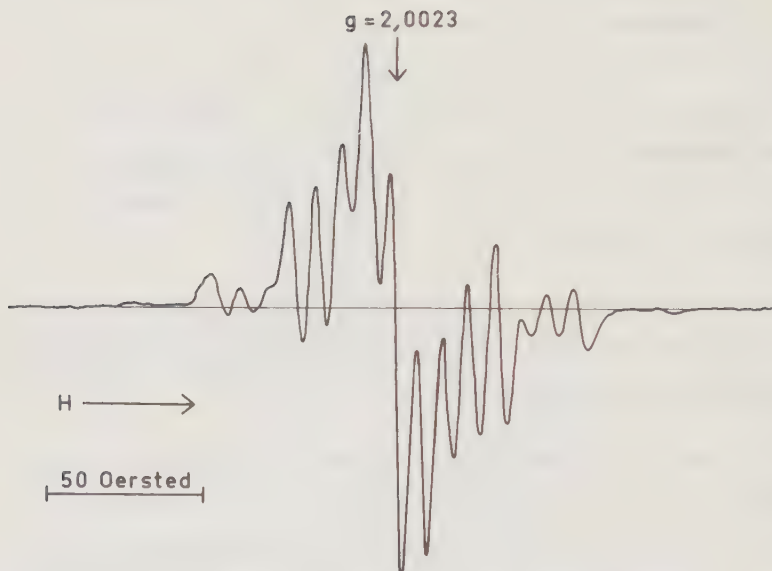


Abb. 10. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach einer der Röntgenbestrahlung von 1 Mrad folgenden UV-Belichtung von 10 h und einer sich daran anschließenden Wärmebehandlung von 1 h bei 353°K.

sich das in Abb. 11 wiedergegebene Spektrum aufnehmen. Außer einer größeren Linie im Zentrum erkennt man einige mehr oder weniger aufgelöste Hyperfeinstrukturlinien. Sie stimmen in ihrer Lage mit einzelnen Linien des in Abb. 8b wiedergegebenen Spektrums überein. Zum besseren Vergleich ist die Abb. 8c unter das Spektrum gezeichnet. Es ist also anzunehmen, daß sich unter den nach sehr langer UV-Bestrahlung nachweisbaren paramagneti-

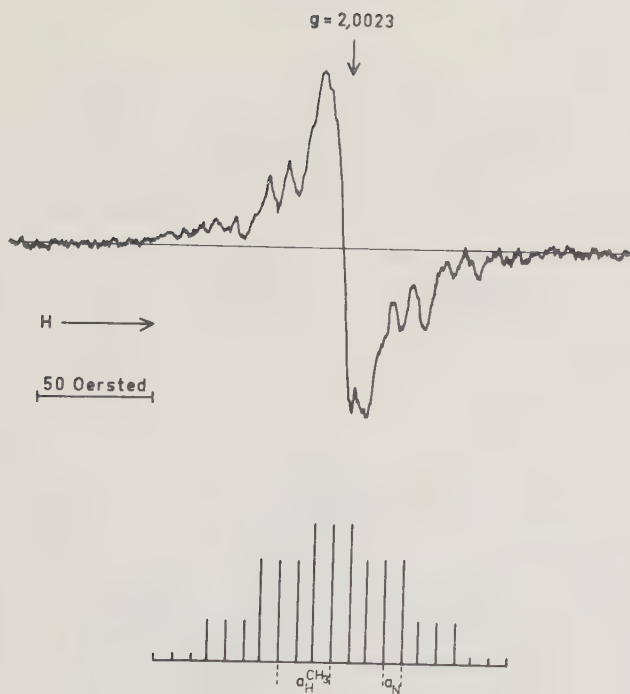


Abb. 11. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach 190 h langer UV-Bestrahlung. Zum Vergleich ist darunter das berechnete Spektrum der Abb. 8c wiedergegeben.

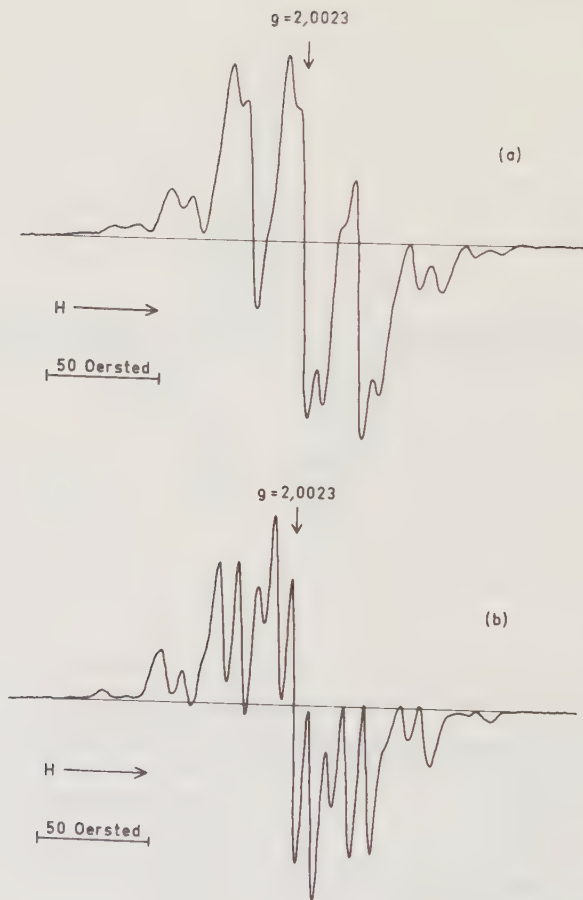


Abb. 12. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach Röntgenbestrahlung mit 100 Mrad (a) vor und (b) nach einer Wärmebehandlung von 9 h bei 353°K.

schen Zentren ebenso wie nach einer Röntgenbestrahlung freie Radikale der Form $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{H}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ befinden. Eine Erwärmung des UV-bestrahlten DL-Valins führt nicht zu Veränderungen im ESR-Spektrum.

In der Abb. 12 ist das Spektrum des DL-Valins nach einer Röntgenbestrahlung mit der hohen Dosis von 100 Mrad wiedergegeben. Eine Änderung der Spektrenform mit steigender Dosis, wie sie bei mehreren Substanzen beobachtet worden ist (2,53, 62,70), ist auch hier deutlich zu erkennen (vergl. Abb. 8). Das ESR-Spektrum zeigt auch in diesem Fall nach einer Erwärmung der Substanz eine stärker aufgelöste Hyperfeinstruktur als vorher.

b) Das Mikrowellensättigungsverhalten

Solange sich noch keine Sättigung bemerkbar macht, ist die Intensität eines ESR-Absorptionssignals proportional der Mikrowellenfeldstärke. Die Abb. 13 gibt die Absorption in Abhängigkeit von der Feldstärke bei freien Radikalen des DL-Valins wieder. Die Mikrowellenfeldstärke ist auf die größte bezogen, die das 50 mW Klystron geliefert hat. Die Ordinatenwerte sind so normiert, daß der Bereich linearer Abhängigkeit bei allen Kurven zusammenfällt. Es zeigt sich, daß bei paramagnetischen Zentren, die beim Valin nach niedrigerer und nach höherer Bestrahlungsdosis erhalten werden, nach einer Wärmebehandlung der Substanz die Sättigung bei geringerer Mikrowellenfeldstärke einsetzt als vorher. Die Spin-Gitter-

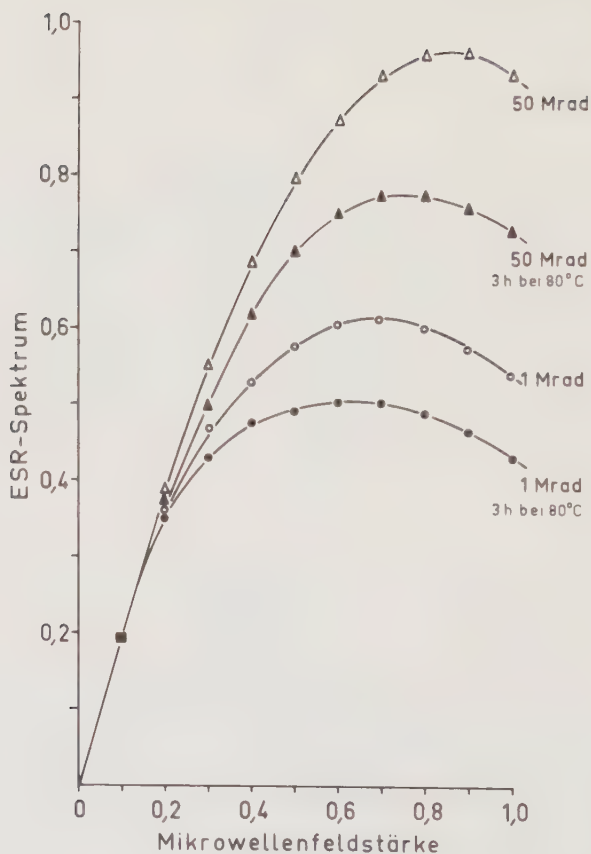


Abb. 13. Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei DL-Valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad und mit 50 Mrad.

Relaxationszeit ist also länger geworden. Daß die Sättigung nach einer höheren Bestrahlungsdosis später einsetzt als nach einer niedrigeren, ist schon früher von uns gefunden worden (57).

2. D-Valin

a) Die ESR-Spektren

Das ESR-Spektrum des D-Valins (Abb. 14) zeigt keine so gut aufgelöste Hyperfeinstruktur wie das des DL-Valins. Sie reicht nach einer Erwärmung der bestrahlten Substanz aber aus, um auch hier den isotropen Anteil der Hyperfeinstrukturaufspaltung messen zu können. Wir erhalten die Werte

$$\begin{aligned} a_{\text{H}}^{\text{CH}_3} &= 22,5 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\ a_{\text{N}} &= 5,6 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\ a_{\text{H}}^{\text{CH}} &\approx 0 \end{aligned}$$

Es wird angenommen, daß die Abweichungen bei den Kopplungskonstanten durch Unterschiede in der Kristallstruktur des DL-Valins und des D-Valins bedingt sind.

Die Radikalzahl der mit 1 Mrad bestrahlten Probe hat sich durch die dreistündige Erwärmung beim DL-Valin um 15% und beim D-Valin um 12% verringert. Dieser Unterschied liegt innerhalb der Meßungenauigkeit.

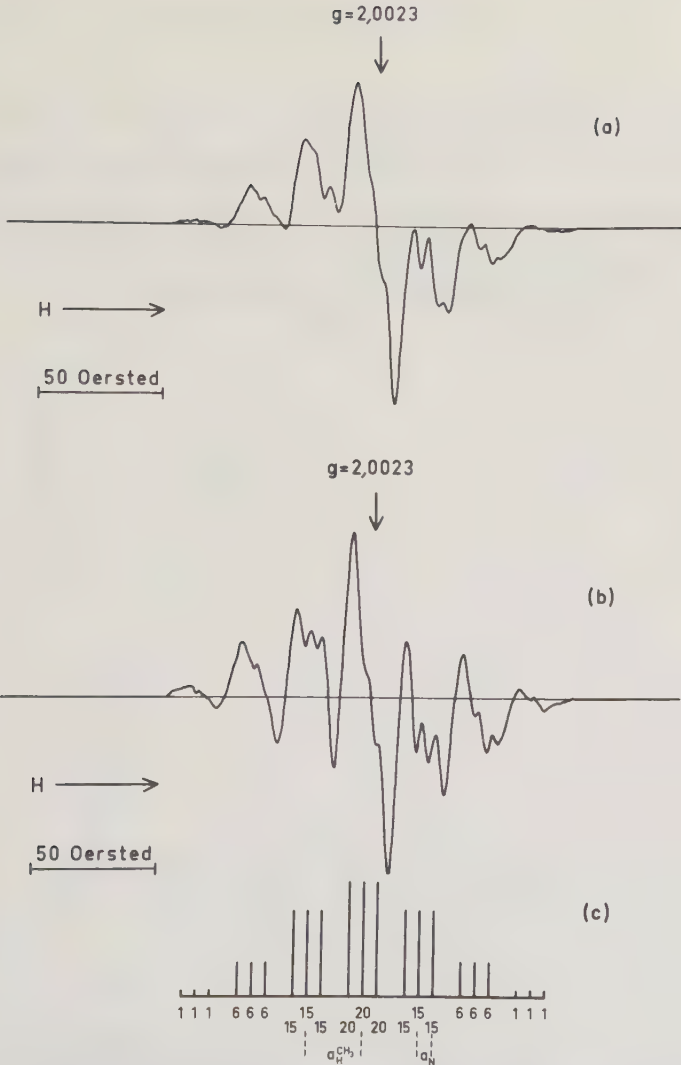


Abb. 14. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem D-Valin nach Röntgenbestrahlung mit 1 Mrad (a) vor und (b) nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K. (c) Berechnetes Spektrum unter Benutzung der gemessenen Hyperfeinstrukturaufspaltung.

b) Das Mikrowellensättigungsverhalten

Der Verlauf der Mikrowellensättigung ist bei DL- und D-Valin etwa gleich. Die geringen Unterschiede mögen wieder durch die verschiedenen Kristallstrukturen der beiden Substanzen bedingt sein. Es ist vorstellbar, daß die Kristallstruktur auf die Spin-Gitter-Wechselwirkung einen Einfluß ausübt.

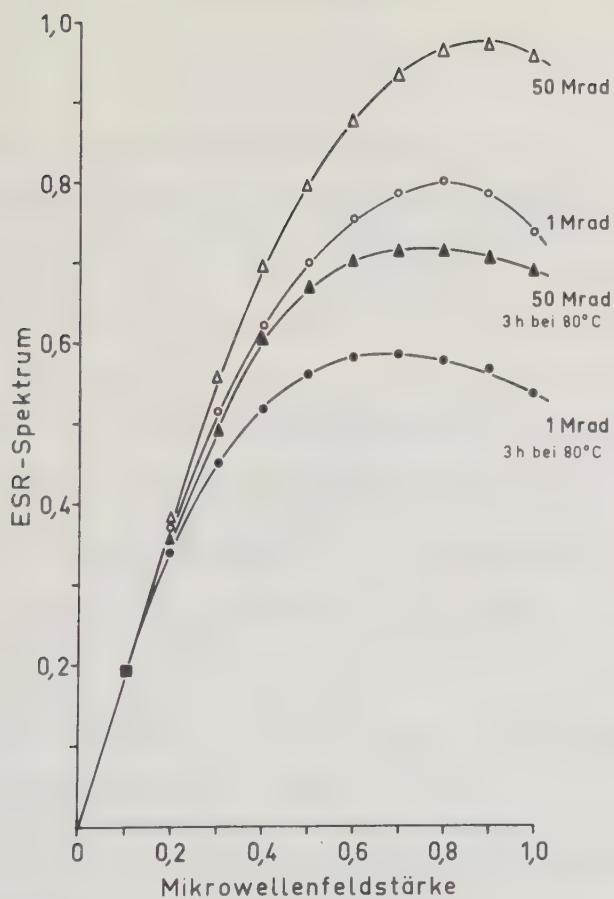


Abb. 15. Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei D-Valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad und mit 50 Mrad.

3. N-Acetyl-DL-valin

a) Die ESR-Spektren

Die Abb. 16 gibt die ESR-Spektren des bestrahlten N-Acetyl-DL-valins wieder. Im Gegensatz zum Valin zeigt hier das vor der Wärmebehandlung aufgenommene Spektrum (a) eine bessere Auflösung als das danach aufgenommene (b). Die Deutung der Radikalstelle bezieht sich deshalb auch auf das Spektrum (a).

Wenn man die gut aufgelösten Hyperfeinstrukturlinien an den Flanken des Gesamtspektrums betrachtet, erkennt man, daß sie in Form von Dubletts angeordnet sind, die einen Abstand von 23,2 Oe voneinander haben. Das Intensitätsverhältnis ist als 1 : 6,5 : 13 und als 1 : 5,5 : 13 bestimmt worden. Hieraus muß man schließen, daß die Grundstruktur des Spektrums aus einem äquidistanten Septett mit dem theoretischen Intensitätsverhältnis 1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1 besteht. Jede dieser sieben Linien wird in ein Dublett von 12,1 Oe Linienabstand aufgespalten. Das zusammen erklärt aber erst eine Aufspaltung von 151,3 Oe, während die gesamte Hyperfeinstrukturaufspaltung des Spektrums zu 192,4 Oe bestimmt worden ist. Man ist also gezwungen, eine weitere Wechselwirkung mit einer Kopplungskonstanten von 41,1 Oe anzunehmen, um das Spektrum deuten zu können. An den Seiten des Spektrums erkennt man auch einige Linien, welche die letzte Annahme berechtigt erscheinen lassen. Das sich mit den angeführten Kopplungskonstanten theoretisch ergebende Spektrum (c) entspricht dem gemessenen

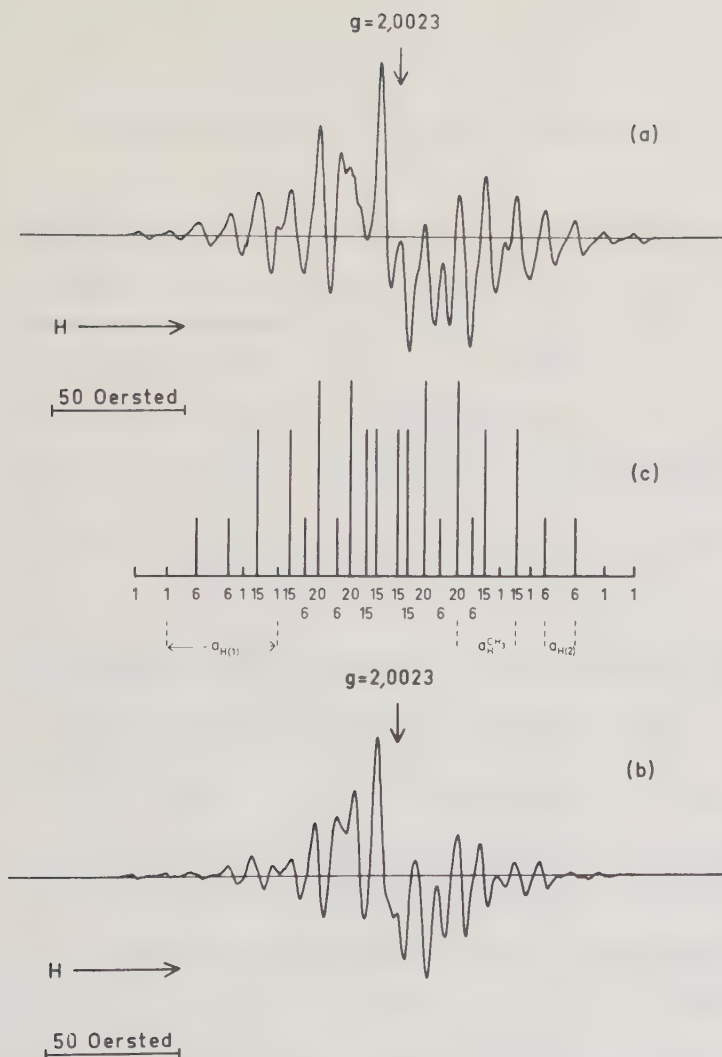
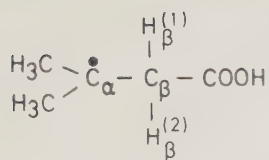


Abb. 16. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem N-Acetyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 1 Mrad (a) vor und (b) nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K . (c) Berechnetes Spektrum unter Benutzung der gemessenen Hyperfeinstrukturaufspaltung.

hinlänglich, wenn man vom Zentrum absieht und wenn man bedenkt, daß das N-Acetyl-DL-valin in polykristalliner Form untersucht worden ist. Im Zentrum macht sich wahrscheinlich die Überlagerung des Spektrums eines zweiten Radikals bemerkbar.

Welche Erklärung bietet sich für die Radikalstelle an? Die Septettstruktur ist der Wechselwirkung des Elektronenspins mit sechs gleichartigen Methylgruppenprotonen zuzuordnen. Da die sechs Aufspaltungsparameter gleich groß sind, muß auf die freie Drehbarkeit der Methylgruppen geschlossen werden. Die Größe der Aufspaltung ist ein Hinweis auf β -Methylgruppenprotonen (78). Es ist weiter anzunehmen, daß die beiden zusätzlichen Aufspaltungen von 12,1 Oe und 41,1 Oe durch die Wechselwirkung von zwei weiteren β -Protonen entstehen. Diese ungleiche Wechselwirkung von β -Protonen erklärt sich aus Unterschieden des Winkels, den die Achse der $2p_z$ -Bahn des Radikalkohlenstoffs mit der $C_\beta-H_\beta$ -Bindung des jeweiligen Protons bildet (24). Daß es sich in unserem Fall um β -Protonen handelt, wird durch die gute Auflösung der einzelnen Linien unterstrichen. α -Protonen zeichnen sich im Gegensatz zu β -Protonen im allgemeinen durch eine große Anisotropie in ihrer Wechselwirkung aus (1).

Unsere Ergebnisse weisen auf folgende Radikalstelle in bestrahltem N-Acetyl-DL-valin hin:



Für den isotropen Anteil der Hyperfeinstrukturaufspaltung ergeben sich die Werte:

$$\begin{aligned}
 a_{\text{H}}^{\text{CH}_3} &= 23,2 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\
 a_{\text{H}(1)} &= 41,1 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\
 a_{\text{H}(2)} &= 12,1 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe.}
 \end{aligned}$$

Eine Änderung der Spektrenform mit steigender Bestrahlungsdosis wird auch bei N-Acetyl-DL-valin beobachtet (Abb. 17).

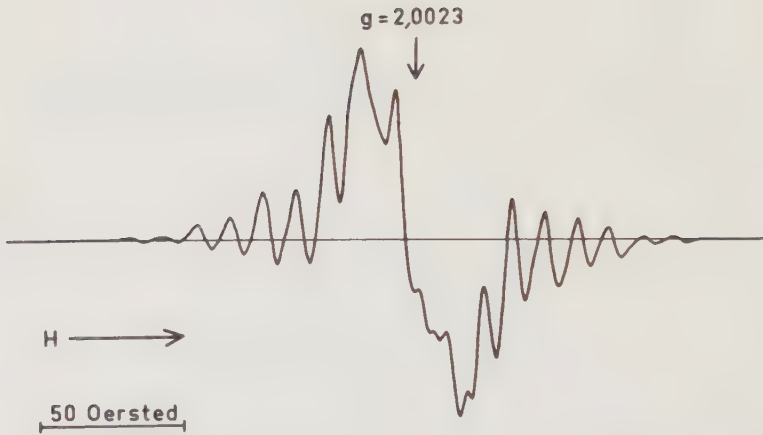


Abb. 17. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem N-Acetyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 50 Mrad.

Das nach langer UV-Bestrahlung aufgenommene ESR-Spektrum besteht aus einer Linie ohne sichtbar aufgelöste Hyperfeinstrukturaufspaltung (Abb. 18).

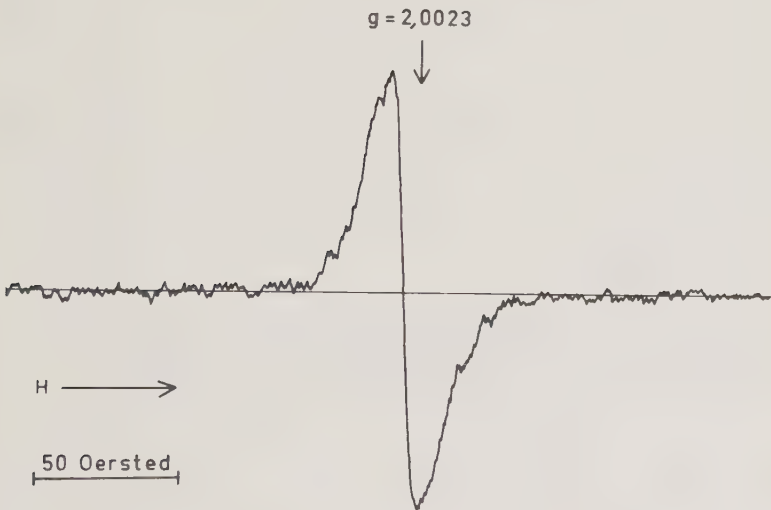


Abb. 18. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem N-Acetyl-DL-valin nach 190 h langer UV-Bestrahlung.

b) Das Mikrowellensättigungsverhalten

Ebenso wie bei den Radikalen des Valins zeigt sich auch bei denen des N-Acetyl-DL-valins ein von der Bestrahlungsdosis abhängiges Mikrowellensättigungsverhalten (Abb. 19). Die Spin-Gitter-Relaxationszeit ist auch hier nach einer höheren Bestrahlungsdosis kürzer als nach einer niedrigeren. Der Unterschied ist allerdings etwas kleiner als beim Valin. Untersucht man die Änderung des Sättigungsverhaltens der Radikale nach Erwärmung einer mit 1 Mrad bestrahlten Substanz an zwei verschiedenen Teilen des ESR-Spektrums (Abb. 20), so ergibt sich folgendes: Während der eine Teil (A) keine Änderung zeigt, läßt der andere Teil (B) auf eine früher einsetzende Sättigung schließen.

Die Radikalzahl der mit 1 Mrad bestrahlten Probe hat sich durch die dreistündige Erwärmung um 32% verringert.

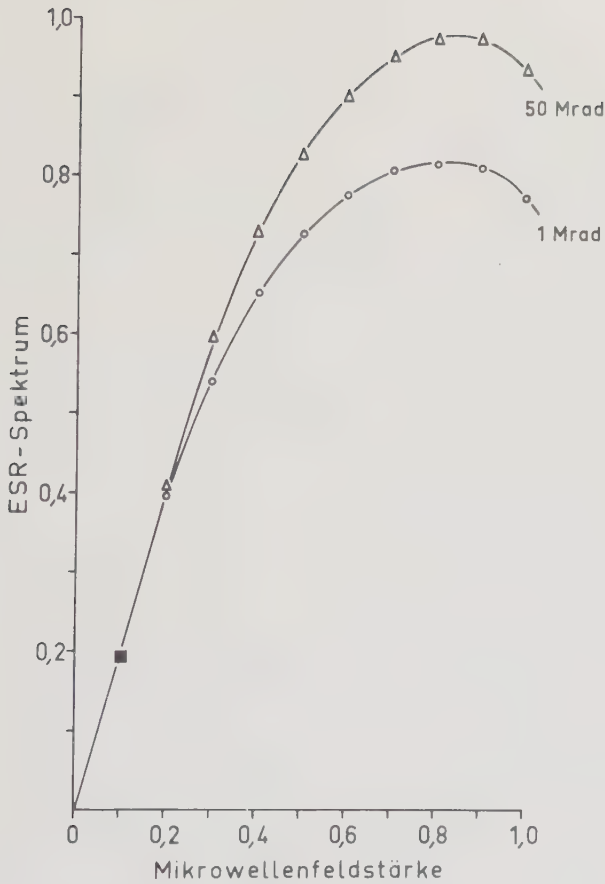


Abb. 19. Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei N-Acetyl-DL-valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad und mit 50 Mrad.

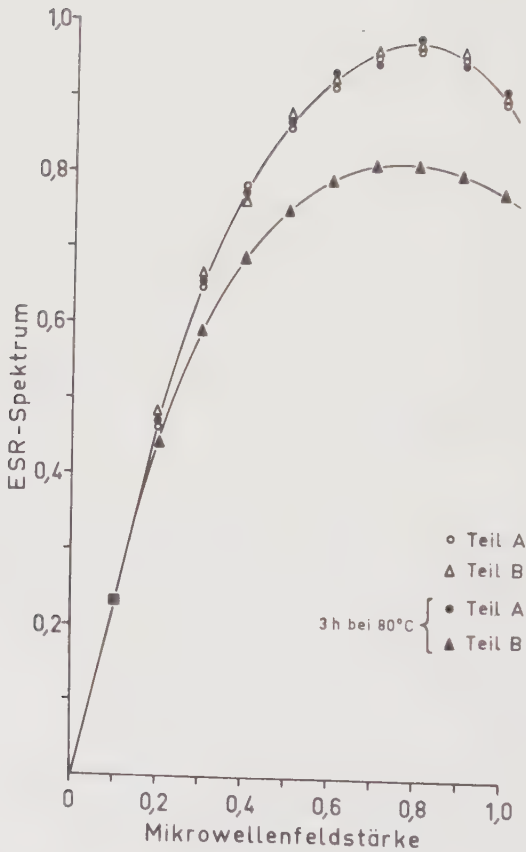


Abb. 20. Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei N-Acetyl-DL-valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K gemessen an verschiedenen Teilen des Spektrums.

4. Glycyl-DL-valin

a) Die ESR-Spektren

In der Abb. 21 ist das ESR-Spektrum des bestrahlten Glycyl-DL-valins wiedergegeben. Ebenso wie beim Valin zeigt das nach der Wärmebehandlung aufgenommene Spektrum (b) eine bessere Auflösung als das vorher aufgenommene (a). Zur Deutung der Radikalstelle wird deshalb das Spektrum (b) herangezogen.

Sieht man von den mit x bezeichneten Linien ab, so erkennt man an den Seiten des Spektrums gut aufgelöste Dubletts, die einen Abstand von 23,2 Oe voneinander haben. Das Intensitätsverhältnis wird als 1 : 6,6 : 12,9 bzw. als 1 : 6,8 : 13,2 gemessen. Hieraus schließen wir, daß die Grundstruktur des Spektrums aus einem äquidistanten Septett mit dem theoretischen Intensitätsverhältnis 1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1 besteht. Jede dieser sieben Linien wird in ein Dublett von 8,5 Oe Linienabstand aufgespalten. Ähnliche Überlegungen wie beim Spektrum des N-Acetyl-DL-valins zwingen zu der Annahme einer weiteren Wechselwirkung mit einer Kopplungskonstanten von 28,0 Oe. Die sich nach diesen Vorstellungen ergebenden Linien sind in (c) dargestellt (Radikal I).

Ebenso wie beim N-Acetyl-DL-valin muß die Septettstruktur der Wechselwirkung des Elektronenspins mit den magnetischen Momenten von sechs gleichartigen Methylgruppenprotonen zugeordnet werden. Die beiden zusätzlichen Aufspaltungen werden durch die Wechselwirkungen mit zwei weiteren β -Protonen ent-

Abb. 21. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 1 Mrad (a) vor und (b) nach einer Wärmebehandlung von 30 min bei 353°K. Das Spektrum (b) ist mit der doppelten Verstärkung wie das Spektrum (a) aufgenommen worden. Die Flanken jedes Spektrums sind noch einmal in zehnfacher bzw. in sechsfacher Verstärkung gegenüber dem Gesamtspektrum wiedergegeben. (c) Berechnetes Spektrum unter Benutzung der gemessenen Hyperfeinstrukturaufspaltung.

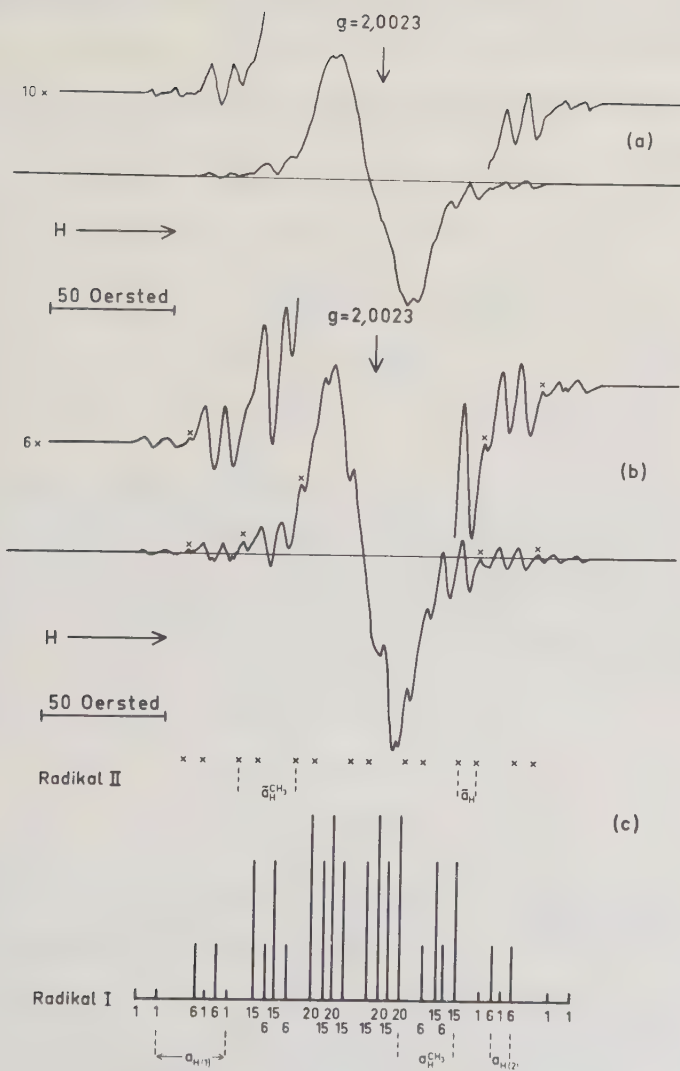


Abb. 2†

stehen. β -Protonen dürften ausscheiden, da die gemessene Wechselwirkung hierfür zu groß ist.

Wir möchten unsere Ergebnisse durch folgende Radikalstelle erklären:

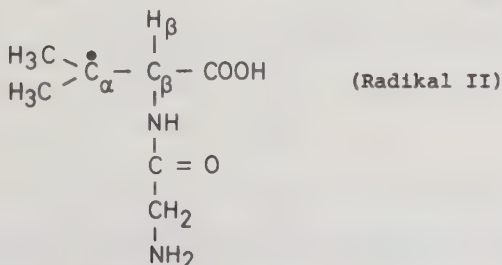


Demnach liegt beim bestrahlten Glycyl-DL-valin das Radikal an der entsprechenden Stelle im Molekül wie beim Valin und beim N-Acetyl-DL-valin. Für den isotropen Anteil der Hyperfeinstrukturaufspaltung ergeben sich die Werte:

$$\begin{aligned}
 a_{\text{H}}^{\text{CH}_3} &= 23,2 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\
 a_{\text{H}(1)} &= 28,0 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\
 a_{\text{H}(2)} &= 8,5 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe}.
 \end{aligned}$$

Die in Abb. 21b mit x bezeichneten Linien ordnen wir einem zweiten Spektrum zu, das dem eben behandelten überlagert ist und eine geringere Intensität aufweist. Die an der Seite des Spektrums erkennbaren Linien haben jeweils einen Abstand von 22,4 Oe voneinander. Die Größe dieser Aufspaltung weist wieder auf die Wechselwirkung eines Elektronenspins mit gleichartigen β -Methylgruppenprotonen hin (78). Nimmt man

sechs Protonen an, so würde sich damit eine Gesamtaufspaltung von 134,4 Oe ergeben. Um die vorhandene Aufspaltung von 141,8 Oe zu erklären, muß man die Wechselwirkung mit mindestens einem weiteren Kernspin annehmen. In der Abb. 21c sind die Linien dargestellt, die sich ergeben müssen, wenn man dem Spektrum ein Septett zu Grunde legt, dessen jeder Term in ein Dublett von 7,4 Oe aufgespalten ist. Im Spektrum zu erkennen sind nur einige der äußeren Linien der angenommenen Dublettaufspaltung, während die nach der Mitte des Spektrums hin gelegenen Linien mit anderen stärkeren zusammenfallen. Trotzdem möchten wir annehmen, daß auch diese zweite Wechselwirkung des Elektronenspins des ungepaarten Elektrons einem β -Proton zuzuordnen ist. Diese Annahme erscheint uns, auch im Hinblick auf die Molekülstruktur der betrachteten Substanz, vernünftig zu sein. Hiernach halten wir die Bildung der folgenden zweiten Radikalart in bestrahltem Glycyl-DL-valin für wahrscheinlich:



Der isotrope Anteil der Hyperfeinstrukturaufspaltung beträgt dann:

$$\tilde{a}_{\text{H}}^{\text{CH}_3} = 22,4 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe}$$

$$\tilde{a}_{\text{H}} = 7,4 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe.}$$

Die Abb. 22 gibt die Änderung der Radikalzahlen der einzelnen

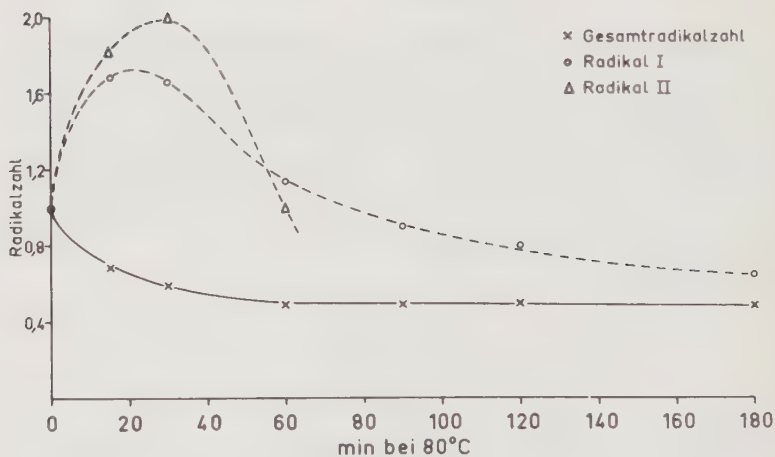


Abb. 22. Die Abhängigkeit der relativen Radikalzahlen des mit 1 Mrad bestrahlten Glycyl-DL-valins von der Dauer der Erwärmung nach der Bestrahlung.

Radikalarten bei der Erwärmung der Substanz wieder. Als Maß für die Radikale I und II ist die Intensität der nicht überlagerten Linien an den Seiten des Spektrums benutzt worden. Die Angaben sind auf die unmittelbar nach der Bestrahlung gemessenen Radikalzahlen bezogen worden.

Während die Gesamtradikalzahl bei der Erwärmung monoton abnimmt, fällt die Zahl der Radikale I und der Radikale II erst nach Überschreiten eines ausgeprägten Maximums ab. Hieraus ist zu schließen, daß noch eine weitere Radikalart vorhanden sein muß, die zum Teil bei ihrem Zerfall die Radikale I und II erzeugt. Dieses Radikal III wird im ESR-Spektrum wohl der breiten, alles überlagernden Linie im Zentrum zugeordnet werden müssen. Die Vermutung liegt nahe, daß diese breite Absorptionslinie von der stark anisotropen Wechselwirkung eines Elektronenspins mit einem α -Proton herrührt.

Das ESR-Spektrum des mit höherer Dosis bestrahlten Glycyl-DL-valins (Abb. 23) zeigt keine so großen Unterschiede gegenüber dem in Abb. 21a dargestellten Spektrum, wie es beim Valin und beim N-Acetyl-DL-valin der Fall ist. Nach einer Erwärmung des Glycyl-DL-valins ändert es sich aber völlig. Es verschwindet jede sichtbare Hyperfeinstruktur. Die Substanz selbst verändert dabei ihre Farbe und wird dunkler.

Das nach langer UV-Bestrahlung aufgenommene ESR-Spektrum besteht aus einer breiten Linie (Abb. 24). Eine Hyperfeinstruktur ist nicht sichtbar.

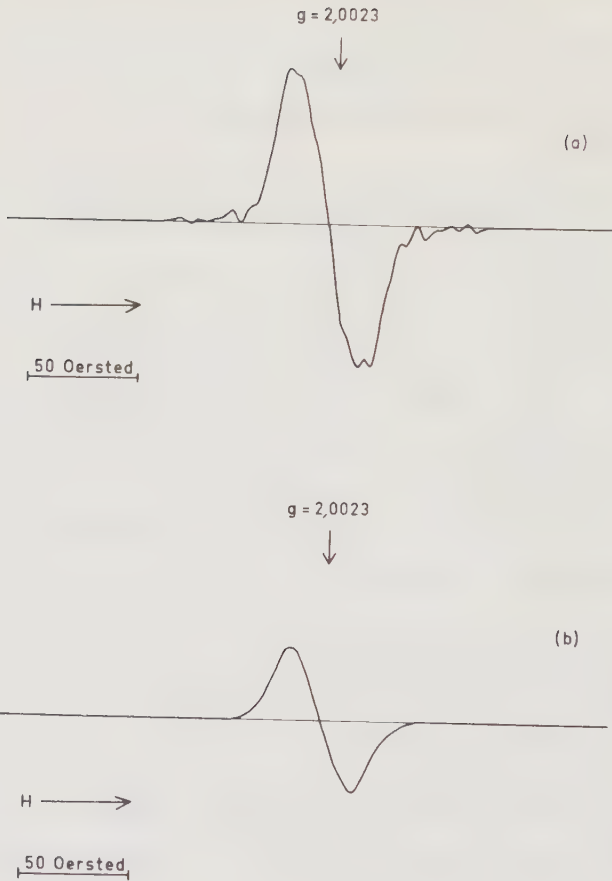


Abb. 23. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 50 Mrad (a) vor und (b) nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K.

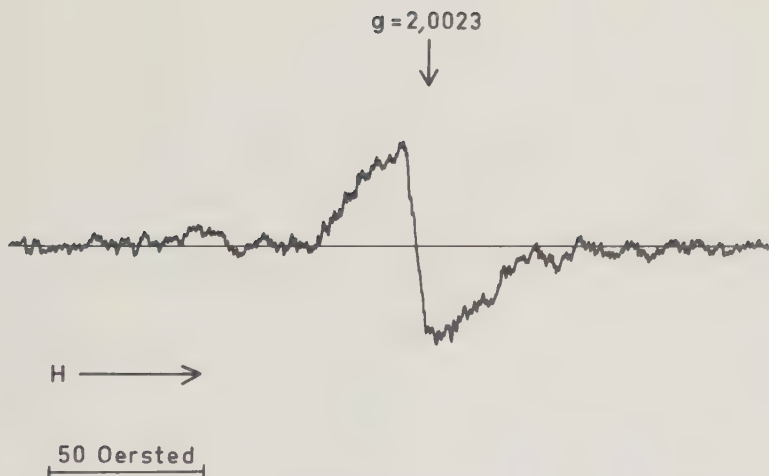


Abb. 24. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach 250 h langer UV-Bestrahlung.

Das ESR-Spektrum des röntgenbestrahlten Glycyl-DL-valins zeigt nach einer UV-Bestrahlung der Substanz eine bessere Auflösung einzelner Linien als vorher (Abb. 25). Obwohl das Gesamtspektrum gegenüber dem nach einer Wärmebehandlung erhaltenen (Abb. 21) einige Unterschiede aufweist, erkennt man an seinen Flanken die gleichen, zu Dubletts angeordneten Hyperfeinstrukturlinien. Linienabstände und g -Werte entsprechen dem Spektrum, das wir dem Radikal I zugeordnet haben.

Abb. 25. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 3 Mrad (a) vor und (b) nach einer UV-Bestrahlung von 60 min. Das Spektrum (b) ist mit einer größeren Verstärkung aufgenommen worden als das Spektrum (a). (c) Berechnetes Spektrum unter Benutzung der gemessenen Hyperfeinstrukturaufspaltung.

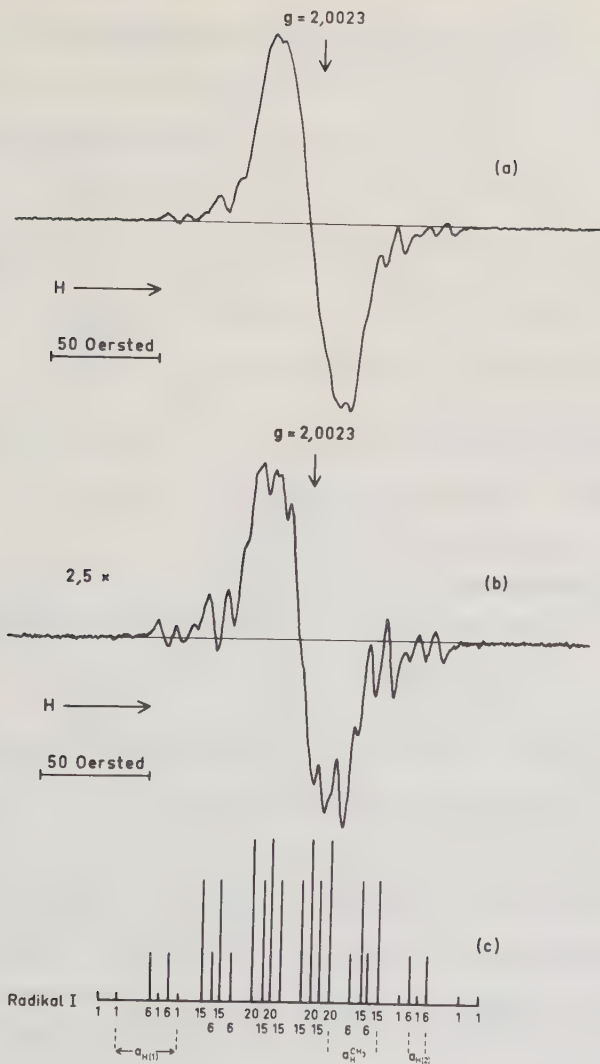
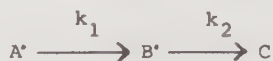


Abb. 25.

b) Reaktionskinetik bei Wärmebehandlung

Es ist schon erwähnt worden, daß bei bestrahltem Glycyl-DL-valin die Gesamtradikalzahl zwar monoton abnimmt, wenn die Substanz erwärmt wird, daß aber die Zahl der Radikale $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ erst nach Überschreiten eines ausgeprägten Maximums abfällt. Schon von RAJEWSKY und REDHARDT (50) ist über eine Zunahme der Intensität des Teiles des ESR-Spektrums des röntgenbestrahlten Federkeratins mit der Zeit nach Bestrahlungsende berichtet worden, der einem Cystinradikal zugeordnet wird. Die Ergebnisse haben sich unter der Annahme einer Reaktion erster Ordnung darstellen lassen. Im allgemeinen beschleunigt die Erwärmung einer bestrahlten Substanz jedoch die Abnahme der Anzahl paramagnetischer Zentren (5,6,29). Auch der Zerfallsprozeß kann häufig durch eine Reaktion erster Ordnung beschrieben werden. Beispiele hierfür haben HORAN et al. (29) nach der Bestrahlung niedermolekularer Substanzen und SOMMERMEYER und SCHNEPEL (69,70) nach der Bestrahlung von Proteinen gefunden.

Es liegt nahe zu untersuchen, ob sich bei Glycyl-DL-valin der gemessene zeitliche Verlauf der Radikalkonzentration unter der Annahme darstellen läßt, daß Bildung und Löschung der betrachteten Radikalstelle nach einer Reaktion erster Ordnung erfolgen.



Unter dieser Voraussetzung ergeben sich die folgenden Differentialgleichungen für die Reaktionsgeschwindigkeiten der Radikale $A^\bullet$ und $B^\bullet$:

$$\frac{dy_{A^\bullet}}{dt} = -k_1 y_{A^\bullet} \quad (1)$$

$$\frac{dy_{B^\bullet}}{dt} = +k_1 y_{A^\bullet} - k_2 y_{B^\bullet} \quad (2)$$

Da nach (1)

$$y_{A^\bullet} = a \cdot e^{-k_1 t}$$

ist, ergibt sich für die Änderungsgeschwindigkeit der Zahl der Radikale $B^\bullet$

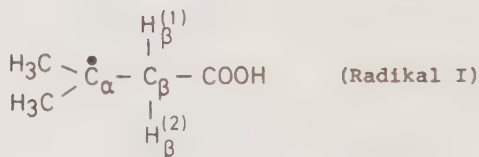
$$\frac{dy_{B^\bullet}}{dt} = ak_1 e^{-k_1 t} - k_2 y_{B^\bullet} \quad (3)$$

Als Integral dieser Differentialgleichung mit der Bedingung, daß die Radikalzahl zur Zeit $t = 0$ (Ende der Bestrahlung) $y = 1$ sein soll, ergibt sich

$$y = \frac{ak_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) + e^{-k_2 t} \quad (4)$$

In dieser Gleichung für den zeitlichen Verlauf der relativen Radikalzahl y sind k_1 und k_2 die Geschwindigkeitskonstanten

der beiden Reaktionen. Aus ihrer Temperaturabhängigkeit ergibt sich die Aktivierungsenergie nach Arrhenius. Der gemessene zeitliche Verlauf der Radikalkonzentration ist entsprechend der Gl. (3) mit einem Analogrechner RA 741 der Firma Telefunken, Konstanz, simuliert worden. Dabei haben sich u.a. die Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_2 bestimmen lassen. In Abb. 26 ist der zeitliche Verlauf der Anzahl der Radikale



bezogen auf die unmittelbar nach der Bestrahlung gemessene Zahl bei vier verschiedenen Temperaturen dargestellt. Die ausgezogenen Linien wurden nach Gl. (4) mit Hilfe des Analogrechners erhalten. Die Lage der Meßpunkte läßt sich also hinreichend genau mit unserer Annahme darstellen, solange man von den Abweichungen bei niedrigen Radikalzahlen absieht. Sie fallen bei den Kurven ins Gewicht, welche die Messungen bei höheren Temperaturen wiedergeben.

Die Gesamtradikalzahl nimmt nach der Bestrahlung monoton ab, und zwar umso schneller, je höher die Temperatur der Substanz ist (Abb. 27).

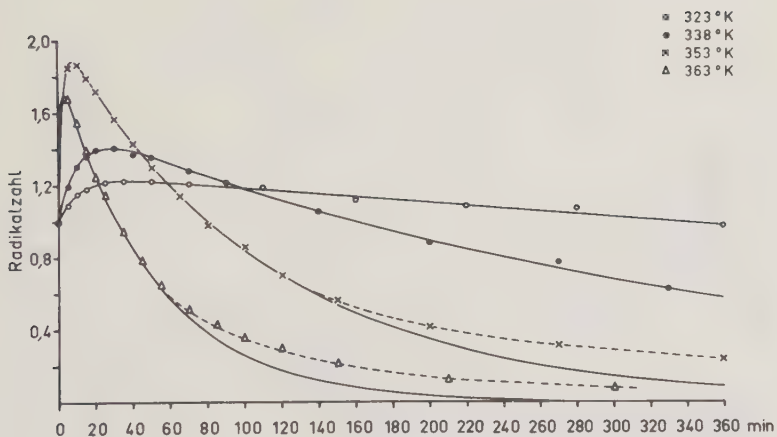


Abb. 26. Bildung und Löschung des Radikals $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ in Glycyl-DL-valin bei einer der Röntgenbestrahlung von 2 Mrad folgenden Wärmebehandlung der Substanz.
 — Mit dem Analogrechner entsprechend Gl. (4) erhaltene Kurven.

In Abb. 28 sind die für die beiden Reaktionen sich ergebenden Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_2 im logarithmischen Maßstab als Funktion der reziproken Temperatur aufgetragen. Nach Arrhenius gilt die Beziehung

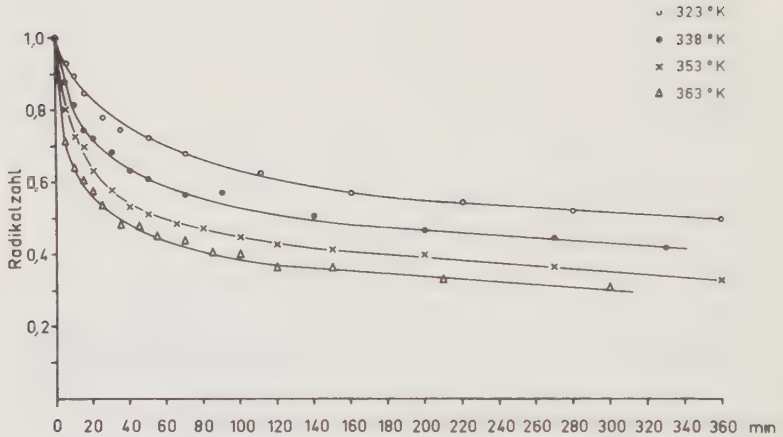


Abb. 27. Die Abnahme der Gesamtradikalzahl des mit 2 Mrad bestrahlten Glycyl-DL-valins bei Erwärmung nach der Bestrahlung.

$$k = k_0 \cdot e^{-\frac{q}{R \cdot T}} \quad (5a)$$

$$\ln k = -\frac{q}{R \cdot T} + \ln k_0, \quad (5b)$$

wobei q die Aktivierungsenergie darstellt. Sie läßt sich unmittelbar aus dem Neigungstangens der Geraden in Abb. 28

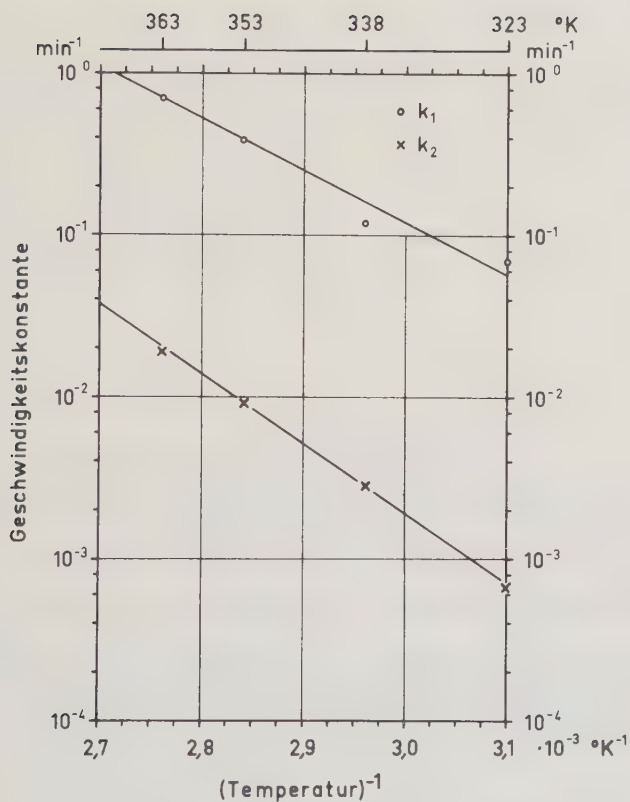


Abb. 28. Die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der reziproken absoluten Temperatur ("Arrhenius-Diagramm").

bestimmen.

Für die Bildung des Radikals $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ aus seinem Vorläufer ergibt sich

$$q_1 = 14,8 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} = 0,64 \text{ eV} \cdot \text{Molekül}^{-1}$$

und für seinen Zerfall

$$q_2 = 19,7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} = 0,85 \text{ eV} \cdot \text{Molekül}^{-1}.$$

c) Reaktionskinetik bei UV-Bestrahlung

Wir beobachten, daß auch bei der UV-Bestrahlung die Gesamt-radikalzahl monoton abnimmt, die Anzahl der Radikale I aber erst nach Überschreiten eines Maximums abfällt (Abb. 29). Abweichungen der Meßwerte vom Kurvenverlauf, wie er nach Gl. (4) gegeben ist, zeigen sich bei niedrigeren Radikalkonzentrationen auch hier.

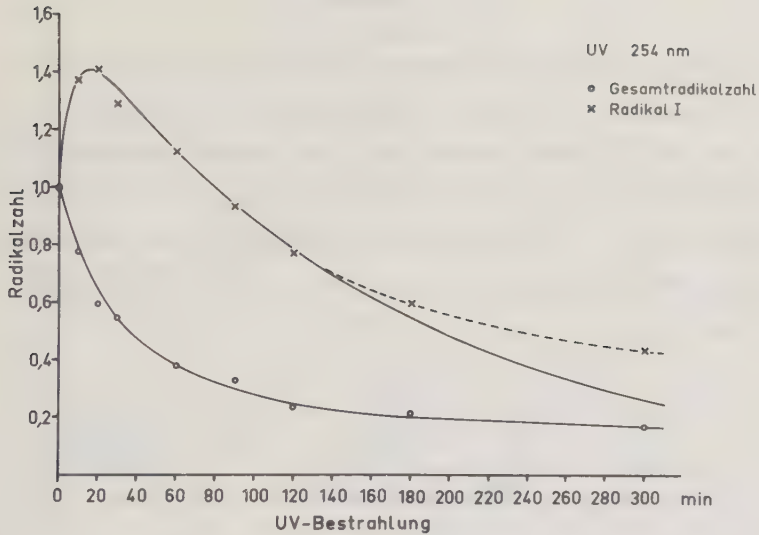
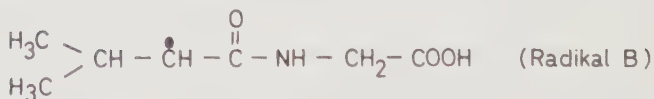
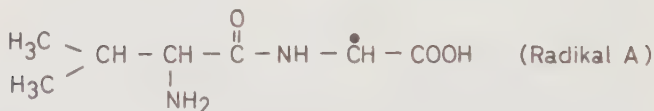


Abb. 29. Bildung und Löschung des Radikals $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{CH}_2\text{COOH}$ (Radikal I) und die Abnahme der Gesamtradikalzahl in Glycyl-DL-valin bei einer der Röntgenbestrahlung von 3 Mrad folgenden UV-Bestrahlung.
 — Bei Radikal I: Mit dem Analogrechner entsprechend Gl. (4) erhaltene Kurve.

5. DL-Valyl-glycin

a) Die ESR-Spektren

Die Abb. 30 gibt das ESR-Spektrum des bestrahlten DL-Valyl-glycins wieder. Es besteht im wesentlichen aus einem Dublett mit $19,3 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe}$ Linienabstand. Wir ordnen diese Aufspaltung der Wechselwirkung des Elektronenspins mit dem Kernspin eines Protons zu. Zur Erklärung der Radikalstelle bieten sich folgende Möglichkeiten:



Für das Radikal A würde sprechen, daß bei den bestrahlten Substanzen N-Acetyl-glycin (40), N-Carbamyl-glycin (51) und Glycyl-glycin-hydrochlorid (4) paramagnetische Zentren an den entsprechenden Stellen im Molekül gefunden worden sind. Für den isotropen Anteil der Hyperfeinstrukturaufspaltung haben sich dabei $a_{\text{H}}^{\text{CH}} = 18 \text{ Oe}, 19,3 \text{ Oe}$ und $19,1 \text{ Oe}$ ergeben, Werte, die mit dem von uns gemessenen gut übereinstimmen.

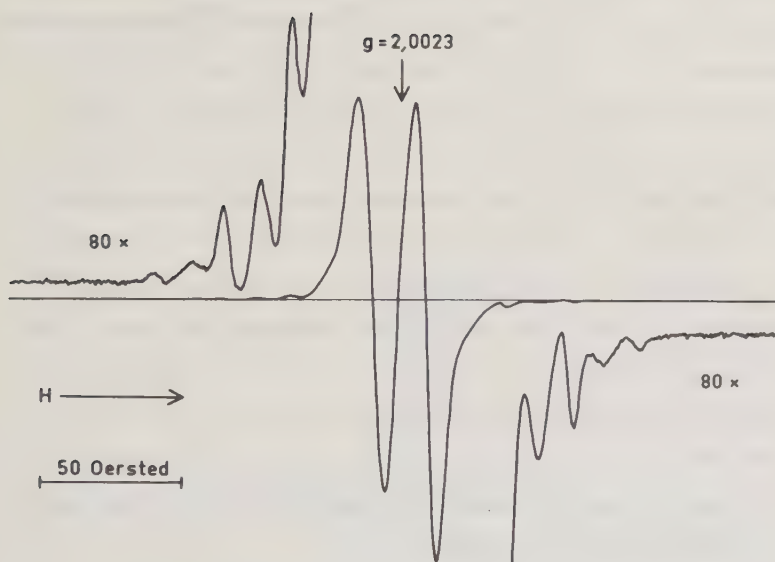


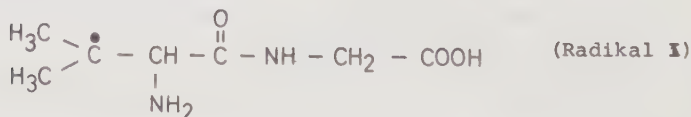
Abb. 30. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valyl-glycin nach Röntgenbestrahlung mit 3 Mrad. Die Flanken des Spektrums sind noch einmal bei grösserer Verstärkung wiedergegeben.

Trotzdem lässt sich mit Hilfe der bis jetzt vorliegenden Ergebnisse keine Entscheidung zugunsten des Radikals A oder des Radikals B fällen.

Dem eben behandelten Spektrum ist ein weiteres mit sehr geringer Intensität überlagert. An den Seiten erkennt man einige

Liniengruppen mit einem Abstand von 23,6 Oe voneinander. Auf Grund dieses Wertes und der großen Gesamtaufspaltung des Spektrums von 168,0 Oe muß man wieder eine Wechselwirkung des Elektronenspins mit sechs gleichartigen Methylgruppenprotonen annehmen (58,78). Dem aufgezeichneten Spektrum nach sollte jede Gruppe aus zwei Linien mit einem Abstand von 13,2 Oe bestehen. Bei dieser Deutung wäre aber wegen der Gesamtaufspaltung noch eine dritte Hyperfeinstrukturwechselwirkung von ebenfalls 13,2 Oe zu erklären. Im Hinblick auf die Molekülstruktur der betrachteten Substanz erscheint uns das schwierig zu sein. Man sollte eher annehmen, daß jede Gruppe nicht aus einem Dublett, sondern aus einem Triplet mit der angegebenen Aufspaltung besteht. Die nach der Mitte des Gesamtspektrums hin gelegene dritte Linie hebt sich gegenüber stärkeren Linien der jeweils angrenzenden Gruppe nicht mehr ab und ist nicht zu erkennen.

Das ESR-Spektrum wird von uns folgender Radikalstelle zugeordnet:



Die Triplettaufspaltung ist zwar sehr groß, um sie der Wechselwirkung des Elektronenspins mit dem Stickstoffkern zuzuordnen, eine andere Erklärung bietet sich dafür aber nicht. Für die isotropen Anteile der Hyperfeinstrukturaufspaltung erhalten wir die Werte

$$a_{\text{H}}^{\text{CH}_3} = 23,6 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe}$$

$$a_{\text{N}} = 13,2 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe}$$

$$a_{\text{H}}^{\text{CH}} \approx 0$$

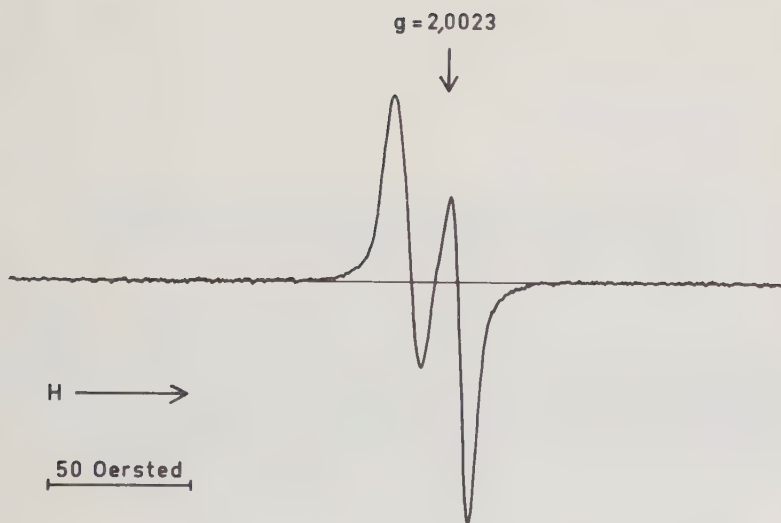


Abb. 31. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valyl-glycin nach 200 h langer UV-Bestrahlung.

Nach UV-Bestrahlung des DL-Valyl-glycins ergibt sich das in Abb. 31 gezeigte Spektrum. Es ist ein Dublett mit einem Linienabstand von ungefähr 19 Oe. Diese Aufspaltung ist wieder der Wechselwirkung des Elektronenspins mit dem Kernspin eines Protons zuzuordnen. Es ist anzunehmen, daß es sich um freie Radikale der Form A oder der Form B handelt.

Eine Überlagerung eines weiteren Spektrums wie in Abb. 30 ist nicht zu erkennen.

b) Die Veränderung der Konzentration strahleninduzierter Radikale durch Erwärmung und durch UV-Bestrahlung

Wird das bestrahlte DL-Valyl-glycin auf 338°K erwärmt, so nimmt sowohl die Gesamtradikalzahl als auch die Anzahl der Radikale I monoton ab (Abb. 32). Eine der Röntgenbestrahlung folgende UV-Belichtung ergibt qualitativ das gleiche (Abb. 33).

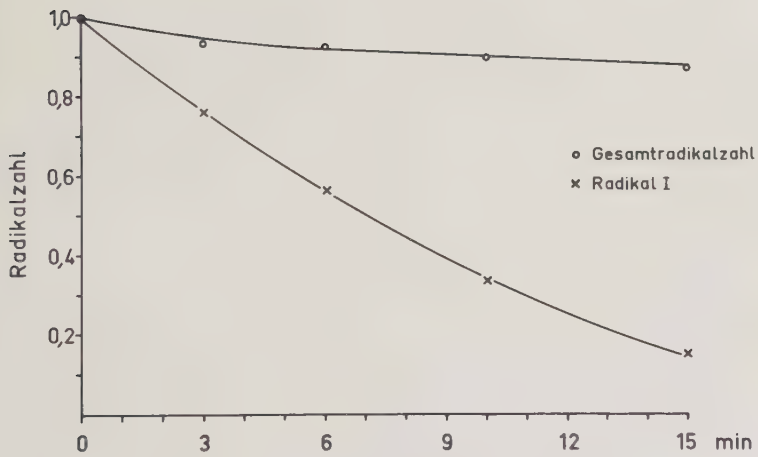


Abb. 32. Die Abnahme der Gesamtradikalzahl und der Zahl der Radikale I in DL-Valyl-glycin bei einer der Röntgenbestrahlung von 3 Mrad folgenden Erwärmung der Substanz auf 338°K .

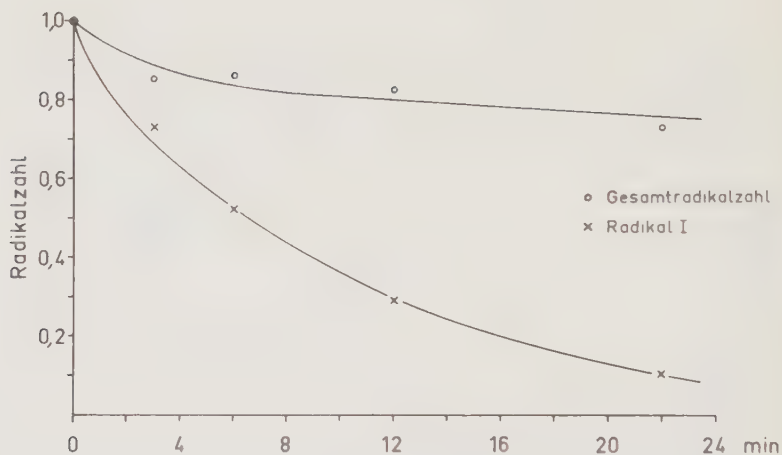
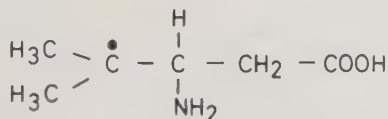


Abb. 33. Die Abnahme der Gesamtradikalzahl und der Zahl der Radikale I in DL-Valyl-glycin bei einer der Röntgenbestrahlung von 3 Mrad folgenden UV-Bestrahlung.

6. β -Amino-isocaproensäure (3-Amino-4-methyl-valeriansäure)

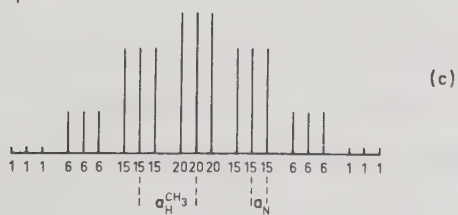
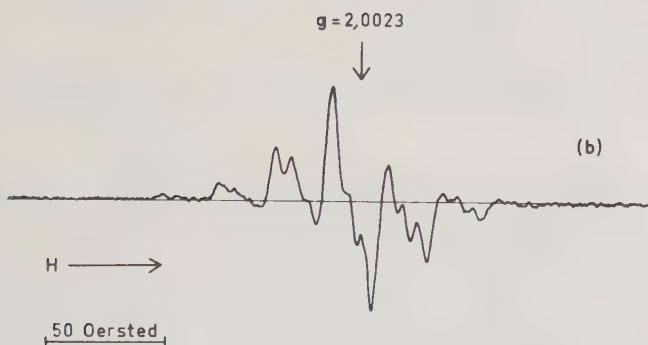
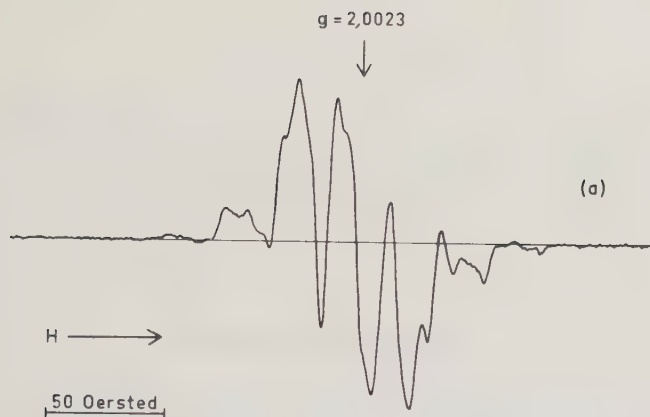
Das ESR-Spektrum der bestrahlten 3-Amino-4-methyl-valeriansäure vor und nach einer Wärmebehandlung der Substanz ist in Abb. 34 wiedergegeben. Die Auflösung der Hyperfeinstruktur im Spektrum ist nach der Wärmebehandlung besser geworden, ebenso wie bei den bestrahlten Substanzen Valin und Glycyl-DL-valin. Man erkennt, daß die Grundstruktur des Spektrums aus einem äquidistanten Septett mit einem Linienabstand von 23,8 Oe besteht. Einige dieser sieben Linien lassen die zusätzliche Aufspaltung in Triplets deutlich erkennen. Die Septettstruktur muß der Wechselwirkung des Elektronenspins mit sechs gleichartigen Methylgruppenprotonen zugeordnet werden. Da die sechs Aufspaltungsparameter gleich groß sind, muß wieder auf eine freie Drehbarkeit der Methylgruppen geschlossen werden. Man muß weiter annehmen, daß die Tripletaufspaltung aus der Wechselwirkung mit dem Stickstoffkern herrührt.

Das Spektrum weist auf folgende Radikalstelle in bestrahlter 3-Amino-4-methyl-valeriansäure hin:



Für den isotropen Anteil der Hyperfeinstrukturaufspaltung ergeben sich die Werte:

Abb. 34. Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristalliner 3-Amino-4-methyl-valeriansäure nach Röntgenbestrahlung mit 4 Mrad (a) vor und (b) nach einer Wärmebehandlung von 450 min bei 363°K. (c) Berechnetes Spektrum unter Benutzung der gemessenen Hyperfeinstrukturaufspaltung.



$$\begin{aligned} a_{\text{H}}^{\text{CH}_3} &= 23,8 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\ a_{\text{N}} &= 6,5 \text{ Oe} \pm 0,5 \text{ Oe} \\ a_{\text{H}}^{\text{CH}} &\approx 0 \end{aligned}$$

Die Radikalzahl der mit 4 Mrad bestrahlten Probe hat sich durch die 7 1/2-stdg. Erwärmung auf 31% verringert.

7. Die Radikalausbeuten

Über die Radikalausbeuten einiger von uns untersuchter Substanzen nach Röntgenbestrahlung bei Zimmertemperatur gibt folgende Tabelle Aufschluß:

Substanz	Radikalausbeute G (100 eV) ⁻¹
DL-Valin	3,5
D-Valin	4,1
L-Valin	4,1
N-Acetyl-DL-valin	3,2
Glycyl-DL-valin	3,6

Die Radikalausbeuten sind bei 700 krad, also sicher noch im linearen Teil der Dosiswirkungskurve (62), gemessen worden. Die relativen Fehler der Werte der verschiedenen Substanzen gegeneinander betragen etwa 10%, die absoluten Fehler dürften wohl das Dreifache davon betragen.

IV. Diskussion

=====

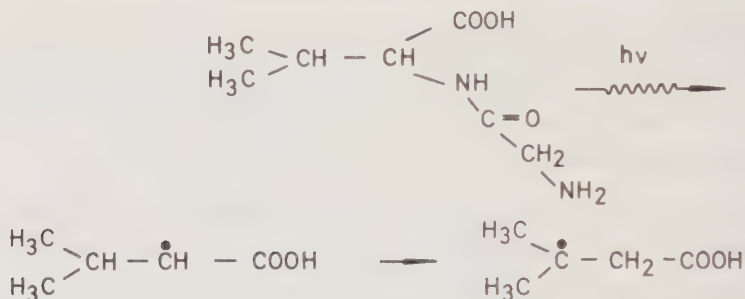
1. Die Radikalstellen

Bei allen von uns untersuchten Substanzen lassen sich nach einer Röntgenbestrahlung bei Zimmertemperatur paramagnetische Zentren nachweisen, die durch Abtrennen des H-Atoms von dem C-Atom gebildet werden, an das die beiden Methylgruppen gebunden sind. Außerdem weisen unsere Ergebnisse auf das Vorkommen anderer Radikalarten hin. Das freie Radikal $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{-R}$ hat einen mehr oder weniger großen Anteil an der Gesamt radikalzahl. Während es beim Valin den überwiegenden Teil bildet, ist beim DL-Valyl-glycin seine Anzahl gegenüber anderen paramagnetischen Zentren so gering, daß seine Messung Schwierigkeiten bereitet.

Nach einer früheren Arbeit anderer Autoren (38) ist das ESR-Spektrum des bestrahlten Glycyl-DL-valins als Sextett gedeutet worden, bei dem jede Linie in ein Dublett aufgespalten wird, während es bei dem Spektrum des N-Acetyl-DL-valins unsicher gewesen ist, ob seine Grundstruktur neun Dubletts gleichen Abstandes entspricht oder aber einem Septett, das durch ungleiche Wechselwirkung mit zwei zusätzlichen Protonen weiter aufgespalten ist. Unsere Untersuchungen haben beim N-Acetyl-DL-valin die zweite Annahme gestützt, während wir beim Glycyl-DL-valin zu einer anderen Deutung gelangt sind.

Beim N-Acetyl-DL-valin und beim Glycyl-DL-valin sollten zur

Bildung des gefundenen Radikals mindestens zwei Reaktionsschritte nach der Absorption der Strahlenenergie erforderlich sein. Man könnte an den folgenden Ablauf denken:



In den von uns untersuchten Substanzen mit Peptidbindungen gibt es also eine Radikalstelle, die nicht an der CH-Gruppe der Peptidkette gebildet wird, wie es bei Polyaminosäuren und Proteinen (12,22,23) aber auch bei mehreren niedermolekularen Peptiden (32,40,51) beobachtet worden ist und wie es nach dem in Abb. 2 dargestellten Reaktionsablauf zu erwarten gewesen wäre. Das ESR-Spektrum nur des DL-Valyl-glycins weist darauf hin, daß das Radikal $\text{R-CO-NH-}\dot{\text{C}}\text{R}_2$ den weitaus größten Anteil unter den bei Zimmertemperatur vorhandenen paramagnetischen Zentren einnimmt. Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß die Bildung strahleninduzierter Radikalstellen bei niedermolekularen Substanzen mit Peptidbindungen nicht immer dem einfachen Modell entspricht, das man nach den bisher vorlie-

genden Arbeiten aufgestellt hat. Welche Unterschiede sich bei zunächst gering erscheinenden Änderungen der Molekülstruktur ergeben können, zeigt sich bei den aus den gleichen Aminosäuren zusammengesetzten Dipeptiden Glycyl-DL-valin und DL-Valyl-glycin. Umstellungen an den Endgruppen werden sich stärker in den Eigenschaften bei kurzkettigen Peptiden auswirken, als das bei langkettigen der Fall sein mag. Wenn man bedenkt, daß während der Bestrahlung alle Stellen im Molekül primär völlig unspezifisch getroffen werden, so ist es beachtenswert, daß sich überhaupt Gesetzmäßigkeiten für die Entstehung paramagnetischer Zentren finden lassen.

Aus unseren Ergebnissen muß weiter geschlossen werden, daß außer dem freien Radikal $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{-R}$ noch andere gebildet werden. Beim DL-Valyl-glycin ist das offensichtlich, aber auch dem ESR-Spektrum des Glycyl-DL-valins entnimmt man, daß nach Röntgenbestrahlung bei Zimmertemperatur mehrere Arten paramagnetischer Zentren vorhanden sind. Es muß aber betont werden, daß diese Radikalarten nicht unabhängig voneinander zu betrachten sind, sondern daß sie sich, zumindest zum Teil, ineinander umwandeln.

Vergleicht man das Mikrowellensättigungsverhalten der Spins der ungepaarten Elektronen beim N-Acetyl-DL-valin vor und nach einer Erwärmung der Substanz miteinander, so zeigt sich in einem Teil des Spektrums keine Änderung, während ein anderer Teil eine Änderung aufweist. Wir führen das darauf zurück, daß in dem einen Teil das Spektrum einer zweiten Radikalart mit unterschiedlicher Spin-Gitter-Relaxationszeit mit einem

größeren Anteil enthalten ist als in dem anderen. Außerdem weist nach einer Erwärmung der Substanz der mittlere Teil des ESR-Spektrums Unterschiede in seiner Struktur auf, während das bei den anderen Teilen nicht der Fall ist (Abb. 16).

Die Erwärmung bewirkt, ebenso wie beim Glycyl-DL-valin, eine schnellere Änderung des Zahlenverhältnisses der Radikalarten, als es durch natürliche Alterung geschehen würde. Die einzelnen Radikalarten müssen dabei eine unterschiedliche Zerfallsgeschwindigkeit aufweisen. Dabei sind sowohl Rekombinations- als auch Umwandlungsreaktionen möglich. Über die Struktur des zweiten in N-Acetyl-DL-valin nach Bestrahlung vorhandenen paramagnetischen Zentrums lassen sich mit unseren jetzigen Ergebnissen keine Angaben machen.

Die durch eine Bestrahlung von 1 Mrad in Valin gebildeten paramagnetischen Zentren zeigen nach einer Erwärmung der Substanz eine andere Spin-Gitter-Wechselwirkung als vorher. Dieser Effekt war nach einer Bestrahlung mit der hohen Dosis von 100 Mrad schon früher von uns beobachtet worden (56). Da er nun auch bei einer erheblich niedrigeren Radikalkonzentration nachgewiesen worden ist, bei der sich die Radikalzahl durch die Erwärmung nur geringfügig vermindert (um 15% bzw. um 12%), glauben wir nicht, daß eine Veränderung der Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen den Spins der ungepaarten Elektronen einen entscheidenden Beitrag hierzu liefert. Wir möchten deshalb weiterhin annehmen, daß auch beim Valin die Änderung des Mikrowellensättigungsverhaltens und der Struktur des ESR-Spektrums nach einer Erwärmung der Substanz durch

eine Änderung der Anteile zweier Radikalarten hervorgerufen werden. Diese Aussage wird durch Befunde anderer Autoren gestützt, die bei Untersuchungen des Zerfallsmechanismus strahleninduzierter paramagnetischer Zentren in deuteriertem L-Valin zwei Arten von Radikalen beobachtet haben (29).

Bei Valin und bei N-Acetyl-DL-valin hat sich ergeben, daß das Mikrowellensättigungsverhalten von der Bestrahlungsdosis abhängt. Nach einer höheren Dosis setzt die Sättigung später ein als nach einer niedrigeren, d.h. die Relaxationszeit ist kürzer geworden. Das kann entweder daran liegen, daß bei höheren Radikalkonzentrationen die Spin-Spin-Wechselwirkung zunimmt, wie es von NEUBACHER (48) bei Hexosen beobachtet worden ist, oder daran, daß sich die Anteile mehrerer Radikalarten mit steigender Dosis ändern.

Bei der β -Amino-isocaproinsäure zeigt sich nach Röntgenbestrahlung bei Zimmertemperatur genau wie bei den von uns untersuchten Substanzen mit Aminogruppen in α -Stellung eine Radikalstelle, die durch Abtrennen eines H-Atoms von dem C-Atom gebildet wird, an das die beiden Methylgruppen gebunden sind.

2. Zur Reaktionskinetik

Die Änderung der Zahl der Radikale $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{HCH}_2\text{COOH}$ bei Glycyl-DL-valin unter dem Einfluß von Erwärmung und UV-Bestrahlung läßt sich unter der Annahme darstellen, daß Bildung und Löschung nach einer Reaktion erster Ordnung erfolgen. Trotzdem ist aus der Gültigkeit dieser Beziehung nicht zu schließen, daß der molekulare Verlauf der Reaktionen diesem Bilde entsprechen muß. Zwar ist der Aufbau des betrachteten paramagnetischen Zentrums in einer monomolekularen Reaktion zu erwarten, der Zerfall kann aber nur durch die Reaktion mit einem Molekül oder einem Molekülbruchstück erfolgen, das ebenfalls einen ungepaarten Elektronenspin aufweist. Die Reaktion müßte einen Verlauf zweiter Ordnung zeigen, wenn die Löschung durch Rekombination zweier gleicher paramagnetischer Zentren erfolgen würde.

HORAN et al. (29) gehen von der Anwesenheit einer Anzahl von Elektron-Defektelektron-Paaren aus, deren Konzentration in der Substanz eine Funktion der Temperatur ist. Weiter wird angenommen, daß in organischen Halbleitern beide Ladungsträger an Moleküle gebunden sind, es also zur Ausbildung positiver und negativer Radikationen kommt, deren Konzentration aber so niedrig ist, daß sie nicht mit der ESR nachgewiesen werden können. Diese Radikationen wandern im Kristall, indem die Ladung von einem Molekül zu dessen Nachbarmolekül übergeht, und zwar so lange, bis eine Rekombination mit einem Radikalion entgegengesetzten Vorzeichens eintritt. Damit eine

Reaktion mit einem durch die Bestrahlung gebildeten freien Radikal erfolgt, muß das Radikal in dessen Nähe kommen. Da diese Bewegungen dem Zufall unterliegen, ist die Wahrscheinlichkeit eines solchen Zusammentreffens proportional der Konzentration paramagnetischer Zentren. Der Zerfall entspricht deshalb einer Reaktion erster Ordnung.

Weiter wird von HORAN et al. (29) darauf hingewiesen, daß nach diesen Vorstellungen die Erzeugung eines Paares von Ladungsträgern der Anfangsschritt ist, der die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmt. Aus der Temperaturabhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit von Halbleitern mit

$$\sigma = \sigma_0 \cdot e^{-\frac{\Delta E}{2kT}} \quad (6)$$

läßt sich die Breite der Energielücke ΔE zwischen dem Valenz- und dem Leitungsband bestimmen. Diese Werte liegen für einige organische Substanzen zwischen 2 und 3 eV (15) und stimmen recht gut mit der doppelten Aktivierungsenergie nach Arrhenius überein (29). (Es ist der doppelte Wert anzusetzen, da im Exponenten der Gl. (6) der Faktor 1/2 auftritt, der in Gl. (5) fehlt.) Auch die sich unter diesen Voraussetzungen nach unseren Messungen für die Breite des verbotenen Bereiches zwischen den Energiebändern ergebenden 1,7 eV bei Glycyl-DL-valin liegen in derselben Größenordnung.

Die Abweichungen der Meßwerte im Bereich niedriger Radikalzahlen von den sich nach der Theorie ergebenden Kurven mögen darauf zurückzuführen sein, daß der Zerfallsprozeß in geringem

Maße Reaktionen höherer Ordnung enthält.

Bei der UV-Belichtung einer Substanz mit strahleninduzierten Radikalen kann es einmal zu einer verstärkten Radikalwanderung und Bildung des Radikals $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ kommen, zum anderen ist aber auch eine Löschung der strahleninduzierten paramagnetischen Zentren möglich. Der erste Prozeß kann beim Glycyl-DL-valin beobachtet werden (Abb. 29), der letzte beim DL-Valyl-glycin (Abb. 33). Natürlich laufen beide Vorgänge auch gleichzeitig ab. Nur über die Radikallöschung können Vermutungen ausgesprochen werden. Es ist vorstellbar, daß eine Rekombination mit Radikalbruchstücken stattfindet, die durch die UV-Belichtung gebildet werden. Dabei muß aber beachtet werden, daß erst nach einer UV-Bestrahlung von einigen zehn Stunden mit der ESR paramagnetische Zentren nachweisbar sind, während bei der Löschung von röntgenstrahleninduzierten Radikalen das UV-Licht schon nach einer Einwirkung von Minuten eine deutliche Wirkung zeigt. Eine Möglichkeit, die diese Schwierigkeit umgeht, würde die Annahme bieten, daß in einem Molekül mit einer Radikalstelle durch die UV-Anregung ein dem ungepaarten Elektron benachbartes Wasserstoffatom leicht abgespalten wird und daß an dieser Stelle dann eine C=C-Doppelbindung entsteht (42). Man könnte sich andererseits auch vorstellen, daß die Radikale nach dem gleichen Mechanismus reagieren, wie er für die Löschung bei Erwärmung beschrieben ist.

3. Mögliche Bedeutung der Ergebnisse für die Aufklärung der Strukturen strahleninduzierter Radikale in Proteinen

Ebenso wie beim Valin haben sich in Substanzen, die sich vom Valin darin unterscheiden, daß über die Peptidbindung eine weitere Gruppe an das Valinmolekül gebunden ist, nach einer Röntgenbestrahlung mehrere Arten paramagnetischer Zentren nachweisen lassen. Wir halten es für möglich, daß auch in Proteinen außer dem Schwefel- und dem Glycyl-glycin-Radikal noch weitere strahleninduzierte paramagnetische Zentren vorliegen. Dieser Schluß von den Eigenschaften kurzkettiger Peptide auf die von Proteinen erschiene sicher sehr gewagt, wenn sich bei den Messungen an Ribonuclease nicht Anhaltspunkte für diese Vermutung ergeben hätten (30,71).

V. Zusammenfassung

=====

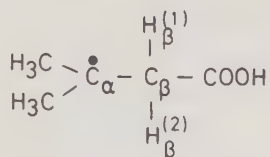
Es ist noch wenig über die Vorgänge bekannt, die zwischen dem physikalischen Primärakt, der Absorption energiereicher Strahlung und einer nachher beobachteten biologischen Schädigung liegen. In der vorliegenden Arbeit wird über Untersuchungen mit Hilfe der Elektronenspinresonanz-Spektroskopie an physikalisch-chemischen Reaktionen berichtet, die sich an die Absorption der Energie anschließen. Es wird nachgewiesen, daß durch Röntgenbestrahlung des N-Acetyl-DL-valins, des Glycyl-DL-valins, des DL-Valyl-glycins und der β -Amino-isocaprönsäure ebenso wie beim Valin freie Radikale der Form $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{-R}$ gebildet werden, die sich durch Abtrennen eines Wasserstoffatoms ergeben.

Aus unseren Ergebnissen muß weiter geschlossen werden, daß außer den freien Radikalen $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{-R}$ noch andere gebildet werden. Beim DL-Valyl-glycin ist das offensichtlich, aber auch dem ESR-Spektrum des Glycyl-DL-valins entnimmt man, daß mehrere Arten paramagnetischer Zentren vorhanden sind. Es muß jedoch betont werden, daß diese Radikalarten nicht unabhängig voneinander zu betrachten sind, sondern daß sie sich, zumindest zum Teil, ineinander umwandeln.

Wegen der Anisotropie des spektroskopischen Aufspaltungsfaktors und der Hyperfeinstruktur ist bei polykristallinen Substanzen die Struktur des Spektrums oft nicht gut aufgelöst

und damit eine Deutung der Radikalstelle erschwert oder manchmal sogar unmöglich gemacht. Es sind deshalb zusätzlich Messungen der Elektronenspinrelaxationen durchgeführt worden. Sie haben ergeben, daß auch beim Valin und beim N-Acetyl-DL-valin mehrere Arten paramagnetischer Zentren vorhanden sind.

Wird das Glycyl-DL-valin nach einer Röntgenbestrahlung erwärmt oder dem UV-Licht ausgesetzt, so nimmt die Gesamtradikalzahl monoton ab, während die Zahl der Radikale



erst nach Überschreiten eines ausgeprägten Maximums abfällt. Es ist möglich, die Versuchsergebnisse unter der Annahme darzustellen, daß sowohl die Bildung als auch der Zerfall dieses paramagnetischen Zentrums nach einer Reaktion erster Ordnung erfolgt. Für die Änderungsgeschwindigkeit der Radikalzahl dy/dt gilt dann die Beziehung

$$\frac{dy}{dt} = ak_1 e^{-k_1 t} - k_2 y .$$

Aus der Temperaturabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_2 der beiden Reaktionen ergeben sich die Aktivierungsenergien nach Arrhenius. Für die Erklärung der Radikallösung wird ein von anderen Autoren vorgeschlagener Mechanis-

mus herangezogen, bei dem die Erzeugung eines Paares von Ladungsträgern der Anfangsschritt ist, der die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmt.

- (10) Conger, A. D. and
M. L. Randolph

Magnetic Centers (Free Radicals)
Produced in Cereal Embryos by
Ionizing Radiation
Radiation Research 11, 54 (1959)
- (11) Dessauer, F. und
K. Sommermeyer

Quantenbiologie, 2. Auflage
Springer Verlag, Berlin - Göttingen -
Heidelberg 1964
- (12) Drew, R. C. and
W. Gordy

Electron Spin Resonance Studies of
Radiation Effects on Polyamino Acids
Radiation Research 18, 552 (1963)
- (13) Ebert, M.,
J. P. Keene,
A. J. Swallow, and
J. H. Baxendale

Pulse Radiolysis
Academic Press,
London - New York 1965
- (14) Ehrenberg, A. and
L. Ehrenberg

The Decay of X-Ray Induced Free
Radicals in Plant Seeds and Starch
Arkiv för Fysik 14, 133 (1958)
- (15) Eley, D. D. and
R. B. Leslie

Electrical Conduction in Solid
Proteins. In: Electronic Aspects
of Biochemistry, p. 105
Academic Press, New York and
London 1964
- (16) Fricke, H. und
S. Morse

Chemische, kolloidale und biologische
Wirkungen von Röntgenstrahlen
verschiedener Wellenlänge in ihrem
Verhältnis zur Ionisation in Luft
II. Ferrosulfat in wässriger Lösung
Strahlentherapie 26, 749 (1927)
- (17) Fricke, H. und
S. Morse

Die Verwendung der Oxydation einer
verdünnten Ferrosulfatlösung als Ei-
chungsmaß der Röntgenstrahlendosis
Strahlentherapie 26, 757 (1927)

- (18) Garrison, W. M.,
M. E. Jayko, and
W. Bennett Radiation-Induced Oxidation of
Protein in Aqueous Solution
Radiation Research 16, 483 (1962)
- (19) Garrison, W. M.,
M. E. Jayko, and
W. Bennett-Corniea Radiation-Chemical Oxidation of
Peptides in the Solid State
Science 146, 250 (1964)
- (20) Garrison, W. M. and
B. M. Weeks Radiation Chemistry of Compounds
Containing the Peptide Bond
Radiation Research 17, 341 (1962)
- (21) Geusic, J. E. Paramagnetic Fine Structure Spectrum
of Cr^{+++} in a Single Ruby Crystal
Phys. Rev. 102, 1252 (1956)
- (22) Gordy, W.,
W. B. Ard, and
H. Shields Microwave Spectroscopy of Biological
Substances. I. Paramagnetic Resonance
in X-Irradiated Amino Acids and
Proteins
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)
41, 983 (1955)
- (23) Gordy, W. and
H. Shields Electron Spin Resonance Studies of
Radiation Damage to Proteins
Radiation Research 9, 611 (1958)
- (24) Heller, C. and
H. M. McConnell Radiation Damage in Organic Crystals.
II. Electron Spin Resonance of
(CO_2H) $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})$ in β -Succinic Acid
J. Chem. Phys. 32, 1535 (1960)
- (25) Henglein, A.,
M. Boysen and
W. Schnabel Die Zersetzung des Polymethacrylsäure-
remethylesters in Lösung unter dem
Einfluß von ^{60}Co -Gamma-Strahlen: Ein
Beispiel für die Energie-Übertragung
bei strahlenchemischen Reaktionen
Z. Phys. Chem. N.F. 10, 137 (1957)

- (26) Henglein, A.,
W. Schnabel und
J. Wendenburg Einführung in die Strahlenchemie
Verlag Chemie
Weinheim/Bergstr. 1969
- (27) Henriksen, T.,
T. Sanner, and
A. Pihl Secondary Processes in Proteins
Irradiated in the Dry State
Radiation Research 18, 147 (1963)
- (28) Henriksen, T.,
T. Sanner, and
A. Pihl Transfer of Radiation-Induced
Unpaired Spins from Proteins to
Sulfur Compounds
Radiation Research 18, 163 (1963)
- (29) Horan, P. K.,
W. D. Taylor,
G. K. Strother,
and W. Snipes Stability of Radiation-Induced
Organic Free Radicals. Decay
by Heat
Biophys. J. 8, 164 (1968)
- (30) Hunt, J. W. and
J. F. Williams Radiation Damage in Dry Ribo-
nuclease: Yields of Free Radicals
and Other Chemical Lesions Compared
with Inactivation Efficiency
Radiation Research 23, 26 (1964)
- (31) Ingram, D. J. E. Free Radicals as Studied by
Electron Spin Resonance
Butterworths Scientific Publications
London 1958
- (32) Katayama, M. J. Mol. Spectry. 9, 429 (1962)
zitiert nach: H. Fischer, Magneti-
sche Eigenschaften freier Radikale.
In: LANDOLT-BÖRNSTEIN: Zahlenwerte
und Funktionen aus Naturwissen-
schaften und Technik (Neue Serie),
Gruppe II/Bd. 1
Springer Verlag, Berlin - Heidel-
berg - New York 1965

- (33) Koch, R. und
H. Mönig
Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. 74. Mitteilung: Lokalisation und Verhalten von Radikalen an bestrahlten Biochemikalien
Strahlentherapie 131, 289 (1966)
- (34) Krokowski, E.
Berechnung der Absorption von Röntgen- und Gammastrahlen. Berechnet für Medien der Ordnungszahlen Z_{eff} 6 - 16
Strahlentherapie 104, 442 (1957)
- (35) Lea, D. E.
Actions of Radiations on Living Cells
Cambridge University Press
Cambridge 1947
- (36) Lockhart, W. C.
and R. C. Jones
EPR Spectrometers: Operating Fundamentals. In: NMR and EPR Spectroscopy, p. 65
Pergamon Press, Oxford - London - New York - Paris 1960
- (37) McClure, D. S.
Spin-Orbit Interaction in Aromatic Molecules
J. Chem. Phys. 20, 682 (1952)
- (38) McCormick, G. and
W. Gordy
Electron Spin Resonance Studies of Radiation Damage to Peptides
J. Phys. Chem. 62, 783 (1958)
- (39) McDowell, C. A.
and W. C. Lin
Int. Symp. molec. Structure and Spectroscopy, Tokyo 1962, D 201
- (40) Miyagawa, I.,
Y. Kurita, and
W. Gordy
Electron Spin Resonance of an Irradiated Single Crystal of N-Acetylglycine
J. Chem. Phys. 33, 1599 (1960)

- (41) Mizushima, M.
and S. Koide
On the Lifetime of the Lower
Triplet States of Benzene
J. Chem. Phys. 20, 765 (1952)
- (42) Mönig, H.
Über die Entstehung und das Verhalten von strahleninduzierten freien Radikalen in schwefelhaltigen organischen Substanzen
Habilitationsschrift,
Freiburg i. Br. 1969
- (43) Mönig, H.
Persönliche Mitteilung
- (44) Mönig, H. and
R. Koch
Electron Spin Resonance Investigations of Ultra-violet and X-irradiated Methionine
Nature 202, 289 (1964)
- (45) Mönig, H. und
R. Koch
ESR-Untersuchungen an bestrahlten schwefelhaltigen und schwefelfreien Pyridoxinderivaten
Biophysik 3, 11 (1966)
- (46) Mönig, H.,
R. Koch und
W. Pfaff
Die Radikalbildung in bestrahlten molekularen Mischungen von Rinder-serumalbumin und organischen Mercaptanen
Biophysik 4, 311 (1968)
- (47) Müller, A.
Spektrographische Untersuchungen mittels paramagnetischer Elektronenresonanz über die Wirkung ionisierender Strahlen auf elementare biologische Objekte
Akad. Wiss. Lit. (Mainz), Abh. Math. Naturw. Klasse 5, 139 (1964)
- (48) Neubacher, H.
Zur Verteilung strahleninduzierter Radikale in einigen Hexosen
Z. Naturforschg. 24 b, 1184 (1969)

- (49) Powers, E. L.

Reversibility of X-Irradiation Effects in Dry Biological Systems
J. Cellular Comp. Physiol. 58,
Suppl. 1, 13 (1961)
- (50) Rajewsky, B. und
A. Redhardt

Zum Zeitverhalten von Elektronenresonanzsignalen in röntgenbestrahltem Federkeratin
Biophysik 1, 1 (1963)
- (51) Rao, D. V. G. L. N.
and M. Katayama

Electron Spin Resonance of an Irradiated Single Crystal of
N-Carbamyl Glycine
J. Chem. Phys. 37, 382 (1962)
- (52) Redhardt, A.

Anwendung der Elektronenspinresonanzmethode in der Strahlenbiologie
Biophysik 2, 303 (1965)
- (53) Rotblat, J. and
J. A. Simmons

Dose-Response Relationship in the Yield of Radiation-Induced Free Radicals in Amino Acids
Phys. Med. Biol. 7, 489 (1963)
- (54) Sands, R. H.

EPR Spectroscopy
In: NMR and EPR Spectroscopy, p. 44
Pergamon Press, Oxford - London - New York - Paris 1960
- (55) Schnepel, G. H.

Ein verstellbarer Sekundärstandard aus Rubin für ESR-Intensitätsmessungen mit einem Rechteckhohlraumresonator H_{102}
Z. Naturforschg. 22 b, 97 (1967)
- (56) Schnepel, G. H.

Alteration of the Microwave Saturation Behaviour after Heat Treatment in Electron Spin Resonance Studies of Free Radicals Produced in DL-Valine by X-Irradiation
Biophysik 5, 85 (1968)

- (57) Schnepel, G. H. Untersuchungen über die Abhängigkeit der Mikrowellensättigung bei der Elektronenspinresonanz strahleninduzierter freier Radikale des DL-Valins und des DL-Leucins von der Bestrahlungsdosis
Z. Naturforschg. 23 b, 1335 (1968)
- (58) Schnepel, G. H. Elektronenspinresonanz-Spektroskopie einiger strahleninduzierter freier Radikale des DL-Valins, des D-Valins, des N-Acetyl-DL-valins und des Glycyl-DL-valins
Biophysik 6, 145 (1969)
- (59) Schnepel, G. H. Zur Reaktionskinetik strahleninduzierter freier Radikale des Glycyl-DL-valins und des DL-Valyl-glycins bei Wärmebehandlung und UV-Bestrahlung
Biophysik 6, 315 (1970)
- (60) Schnepel, G. H. and H. Mönig The Effect of Heat-Treatment and UV-Irradiation on X-Ray Induced Electron Spin Resonance Centers in Valine
Experientia (Basel) 24, 1113 (1968)
- (61) Schoffa, G. Elektronenspinresonanz in der Biologie
Verlag G. Braun, Karlsruhe 1964
- (62) Schoffa, G. Über Veränderungen von Aminosäuren nach Bestrahlung mit hohen Dosen: Dipolverbreiterung der ESR-Linien bei hohen Radikalkonzentrationen
Biophysik 3, 264 (1966)

- (63) Shalek, R. J.,
W. K. Sinclair, and
J. C. Calkins
The Relative Biological Effectiveness of 22-Mevp X-Rays, Cobalt-60 Gamma Rays, and 200-Kvcp X-Rays
II. The Use of the Ferrous Sulfate Dosimeter for X-Ray and Gamma-Ray Beams
Radiation Research 16, 344 (1962)
- (64) Shields, H. and
W. Gordy
Electron Spin Resonance of β -Irradiated Single Crystals of α -Amino Isobutyric Acid, Isobutyramide, and DL-Valine
Bull. Am. Phys. Soc. 6, 257 (1961)
- (65) Shields, H.,
P. Hamrick, and
D. DeLaigle
Electron Spin Resonance of X-Irradiated Valines
J. Chem. Phys. 46, 3649 (1967)
- (66) Simmons, J. A.
Microwave Saturation in Radiation-Induced Free Radicals
J. Chem. Phys. 36, 469 (1962)
- (67) Singer, L. S.
Synthetic Ruby as a Secondary Standard for the Measurement of Intensities in Electron Paramagnetic Resonance
J. Appl. Phys. 30, 1463 (1959)
- (68) Sommermeyer, K.
Die Entwicklung der Treffertheorie seit dem Jahre 1946 unter besonderer Berücksichtigung ihrer Anwendung auf die biologische Wirkung energiereicher Strahlen
In: Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung, S. 1 (Herausg.: H. R. Schinz, H. Holthausen, H. Langendorff, B. Rajewsky, G. Schubert)
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1959

- (69) Sommermeyer, K. und G. H. Schnepel Die Inaktivierung des Pepsins durch Röntgenstrahlen in ihrer Abhängigkeit vom Wassergehalt und ihr Verhältnis in den ESR-Spektren des Pepsins
In: Biophysikalische Probleme der Strahlenwirkung, S. 99
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1966
- (70) Sommermeyer, K. und G. H. Schnepel Die Inaktivierung des Pepsins durch Röntgenstrahlen in ihrer Abhängigkeit vom Wassergehalt im Zusammenhang mit der Entstehung der langlebigen Radikale
Biophysik 3, 213 (1966)
- (71) Sommermeyer, K., G. H. Schnepel und R. Buss Die Inaktivierung der Ribonuclease durch Röntgenstrahlen in ihrer Abhängigkeit vom Wassergehalt
Biophysik 4, 129 (1967)
- (72) Sommermeyer, K., G. H. Schnepel und R. Buss Die Inaktivierung der Ribonuklease durch Röntgenstrahlen in ihrer Abhängigkeit vom Wassergehalt und das Verhalten ihrer ESR-Spektren
In: Molekulare Struktur und Strahlenwirkung, S. 151
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968
- (73) Sparrman, B., L. Ehrenberg, and A. Ehrenberg Scavenging of Free Radicals and Radiation Protection by Nitric Oxide in Plant Seeds
Acta Chem. Scand. 13, 199 (1959)
- (74) Streffer, C. Strahlen-Biochemie
Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1969

- (75) Tallentire, A. and
E. L. Powers

Modification of Sensitivity to
X-Irradiation by Water in *Bacillus*
megaterium
Radiation Research 20, 270 (1963)
- (76) Timoféeff-Ressovsky,
N. W. und
K. G. Zimmer

Das Trefferprinzip in der Biologie
S. Hirzel Verlag
Leipzig 1947
- (77) Webb, R. B.

Physical Components of Radiation
Damage in Cells
In: Physical Processes in Radiation
Biology, p. 267
(Ed.: L. Augenstein, R. Mason,
B. Rosenberg)
Academic Press, New York and
London 1964
- (78) Whiffen, D. H.

Characteristic Hydrogen Hyperfine
Couplings in Aliphatic Free Radicals
Pure Appl. Chem. 4, 185 (1962)
- (79) Zimmer, K. G.,
L. Ehrenberg und
A. Ehrenberg

Nachweis langlebiger magnetischer
Zentren in bestrahlten biologischen
Medien und deren Bedeutung für die
Strahlenbiologie
Strahlentherapie 103, 3 (1957)
- (80) Zimmer, K. G.,
W. Köhnlein,
G. Hotz und
A. Müller

Elektron-Spin-Resonanzen in bestrahl-
ten Bakteriophagen und deren Bestand-
teilen
I. Mitteilung
Strahlentherapie 120, 161 (1963)

Abbildungsverzeichnis

=====

Abb. 1	S. 6	Strahlenbiologische Reaktionskette
Abb. 2	S. 9 u. 10	Strahleninduzierte chemische Reaktionen bei Peptiden
Abb. 3	S. 19	Die von zwei und von drei Protonen mit gleichen Kopplungskonstanten hervorgeru- fene Hyperfeinstrukturaufspaltung der Terme
Abb. 4	S. 24	Strukturformeln der untersuchten Substanzen
Abb. 5	S. 29	Prinzip eines ESR-Spektrometers
Abb. 6	S. 34	Mikrowellenresonator mit eingebautem Rubinkristall
Abb. 7	S. 36	Die relative Intensität des ESR-Spektrums des Rubins in Abhängigkeit von seinem Ab- stand von der Resonatormitte
Abb. 8	S. 39	Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach Röntgen- bestrahlung mit 1 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K
Abb. 9	S. 40	Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach einer der Röntgenbestrahlung von 1 Mrad folgenden UV-Belichtung von 10 h
Abb. 10	S. 42	Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach einer der Röntgenbestrahlung von 1 Mrad folgenden UV-Belichtung von 10 h und einer sich daran anschließenden Wärmebehandlung von 1 h bei 353°K

- Abb. 11 S. 43 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach 190 h langer UV-Bestrahlung
- Abb. 12 S. 44 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valin nach Röntgenbestrahlung mit 100 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 9 h bei 353°K
- Abb. 13 S. 46 Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei DL-Valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad und mit 50 Mrad
- Abb. 14 S. 49 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem D-Valin nach Röntgenbestrahlung mit 1 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K
- Abb. 15 S. 51 Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei D-Valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad und mit 50 Mrad
- Abb. 16 S. 53 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem N-Acetyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 1 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K
- Abb. 17 S. 56 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem N-Acetyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 50 Mrad
- Abb. 18 S. 57 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem N-Acetyl-DL-valin nach 190 h langer UV-Bestrahlung
- Abb. 19 S. 59 Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei N-Acetyl-DL-valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad und mit 50 Mrad

- | | | |
|---------|----------------|--|
| Abb. 20 | S. 60 | Die Abhängigkeit der Mikrowellenabsorption von der Mikrowellenfeldstärke bei N-Acetyl-DL-valin nach Bestrahlung mit 1 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K gemessen an verschiedenen Teilen des Spektrums |
| Abb. 21 | S. 62
u. 63 | Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 1 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 30 min bei 353°K |
| Abb. 22 | S. 66 | Die Abhängigkeit der relativen Radikalzahlen des mit 1 Mrad bestrahlten Glycyl-DL-valins von der Dauer der Erwärmung nach der Bestrahlung |
| Abb. 23 | S. 68 | Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 50 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 3 h bei 353°K |
| Abb. 24 | S. 69 | Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach 250 h langer UV-Bestrahlung |
| Abb. 25 | S. 70
u. 71 | Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem Glycyl-DL-valin nach Röntgenbestrahlung mit 3 Mrad vor und nach einer UV-Bestrahlung von 60 min |
| Abb. 26 | S. 75 | Bildung und Löschung des Radikals $(CH_3)_2\dot{C}H_2COOH$ in Glycyl-DL-valin bei einer der Röntgenbestrahlung von 2 Mrad folgenden Wärmebehandlung der Substanz |
| Abb. 27 | S. 76 | Die Abnahme der Gesamtradikalzahl des mit 2 Mrad bestrahlten Glycyl-DL-valins bei Erwärmung nach der Bestrahlung |

- Abb. 28 S. 77 Die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der reziproken absoluten Temperatur ("Arrhenius-Diagramm")
- Abb. 29 S. 79 Bildung und Löschung des Radikals $(\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{CH}_2\text{COOH}$ und die Abnahme der Gesamtradikalzahl in Glycyl-DL-valin bei einer der Röntgenbestrahlung von 3 Mrad folgenden UV-Bestrahlung
- Abb. 30 S. 81 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valyl-glycin nach Röntgenbestrahlung mit 3 Mrad
- Abb. 31 S. 83 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristallinem DL-Valyl-glycin nach 200 h langer UV-Bestrahlung
- Abb. 32 S. 85 Die Abnahme der Gesamtradikalzahl und der Zahl der Radikale I in DL-Valyl-glycin bei einer der Röntgenbestrahlung von 3 Mrad folgenden Erwärmung der Substanz auf 338°K
- Abb. 33 S. 86 Die Abnahme der Gesamtradikalzahl und der Zahl der Radikale I in DL-Valyl-glycin bei einer der Röntgenbestrahlung von 3 Mrad folgenden UV-Bestrahlung
- Abb. 34 S. 88
u. 89 Erste Ableitung des ESR-Spektrums von polykristalliner 3-Amino-4-methyl-valeriansäure nach Röntgenbestrahlung mit 4 Mrad vor und nach einer Wärmebehandlung von 450 min bei 363°K

Herrn Prof. Dr. A. Schraub, dem Direktor des Instituts für Biophysik der Justus Liebig-Universität Gießen, danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit sowie für die freundliche Unterstützung mit vielen Hinweisen und Ratschlägen.

Gießen, Juni 1970

Lebenslauf

Am 25. Dezember 1935 wurde ich als Sohn des Studienrates Heinrich Wilhelm Schnepel und seiner Ehefrau Käthe Christiane, geborene Iden, in Bremen geboren. Im Jahre 1942 kam ich in die Volksschule in Bremen. Infolge der Kriegssereignisse wurden die Schulen dort im Jahre 1943 geschlossen. Ich besuchte von da an mit mehreren Unterbrechungen die Volksschule in Loccum, Kreis Nienburg/Weser. Von 1945 an ging ich in die Volksschule auf der Hohwisch in Bremen. Am 23. Juni 1947 kam ich in die Oberschule für Jungen an der Dechanatstraße in Bremen. Ich gehörte dem mathematisch-naturwissenschaftlichen Zuge an. Am 18. Februar 1955 erhielt ich dort das Zeugnis der Reife.

Am 29. April 1955 begann ich an der Naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br. das Studium der Physik. Die Diplom-Physiker-Vorprüfung bestand ich dort am 29. Mai 1959. Vom 6. November 1959 bis 25. Februar 1960 war ich an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Freien Universität Berlin eingeschrieben und vom 29. April 1960 bis 4. August 1960 an der Philosophischen Fakultät der Karl-Franzens-Universität Graz, um das Studium der Physik fortzusetzen. Am 11. November 1960 wurde ich wieder an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br. immatrikuliert. Die Diplom-Physiker-Hauptprüfung bestand ich dort am 21. Juli 1967. Das Thema meiner Diplom-Arbeit lautete "Die Elektronenspinresonanz-Spektren nach Bestrahlung trockener und feuchter Enzyme mit Röntgen- und Kathodenstrahlen". Die Arbeit wurde unter Anleitung von Prof. Dr. K. Sommermeyer im Radiologischen Institut der Universität Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Langendorff) durchgeführt.

Seit dem 15. April 1968 bin ich am Institut für Biophysik der Justus Liebig-Universität Gießen bei Prof. Dr. A. Schraub tätig. Unter seiner Anleitung entstand die vorliegende Dissertation.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449